

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

21.6.2004

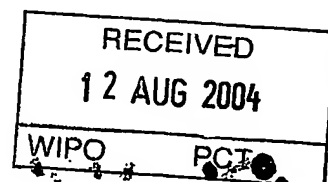
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年6月18日

出願番号
Application Number: 特願2003-173972
[ST. 10/C]: [JP 2003-173972]

出願人
Applicant(s): 江崎グリコ株式会社

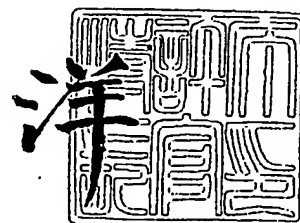


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 7月29日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願

【整理番号】 PH15-013

【提出日】 平成15年 6月18日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 9/14

【発明者】

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市灘区桜口町 5 丁目 1 - 1 - 6 0 3

 【氏名】 柳瀬 美千代

【発明者】

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市灘区楠丘町 6 丁目 5 - 2 0 - 3 0 4

 【氏名】 高田 洋樹

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市朝日町 1 3 - 8 - 4 0 6

 【氏名】 藤井 和俊

【発明者】

 【住所又は居所】 兵庫県神戸市北区日の峰 4 - 7 - 1 6

 【氏名】 鷹羽 武史

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府吹田市五月が丘東 8 番 C - 5 1 2

 【氏名】 栗木 隆

【特許出願人】

 【識別番号】 000000228

 【氏名又は名称】 江崎グリコ株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100078282

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 山本 秀策

【選任した代理人】

【識別番号】 100062409

【弁理士】

【氏名又は名称】 安村 高明

【選任した代理人】

【識別番号】 100113413

【弁理士】

【氏名又は名称】 森下 夏樹

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001878

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0207269

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 α -グルカンホスホリラーゼ (GP) の耐熱化方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 天然の α -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼであって、

該天然の α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であり、

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置、135 位アスパラギン (N 135) に相当する位置および 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼとは異なるアミノ酸残基を有し、かつ

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを 20 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で 60℃ で 10 分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性の 20% 以上である、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項 2】 配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置または 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置において、前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項 3】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列が、配列番号 2 の 1 位～916 位、配列番号 4 の 1 位～912 位、配列番号 6 の 1 位～893 位、配列番号 8 の 1 位～939 位、配列番号 10 の 1 位～962 位、配列番号 12 の 1 位～971 位、配列番号 14 の 1 位～983 位、配列番号 16 の 1 位～928 位、配列番号 18 の 1 位～951 位、配列番号 20 の 1 位～832 位、配列番号 22 の 1 位～840 位、配列番号 24 の 1 位～841 位、配列番号 26 の 1 位～842 位、配列番号 28 の 1 位～841 位および配列番号 30 の 1 位～838 位からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも 50% の同一性を有する、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項4】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列が、配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位からなる群より選択されるアミノ酸配列をコードする塩基配列からなる核酸分子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子によってコードされる、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項5】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼが、タイプL α -グルカンホスホリラーゼである、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項6】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼが、タイプH α -グルカンホスホリラーゼである、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項7】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列が、配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位からなる群より選択される、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項8】 前記天然の α -グルカンホスホリラーゼが、馬鈴薯由来である、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項9】 配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置、135位アスパラギン（N135）に相当する位置および

706位トレオニン (T706) に相当する位置からなる群より選択される少なくとも2つの位置において、前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項10】 配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン (F39) に相当する位置、135位アスパラギン (N135) に相当する位置および706位トレオニン (T706) に相当する位置において、前記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項11】 前記F39に相当する位置におけるアミノ酸残基が、バリン、ロイシンおよびイソロイシンからなる群より選択される、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項12】 前記F39に相当する位置におけるアミノ酸残基が、ロイシンである、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項13】 前記N135に相当する位置におけるアミノ酸残基が、セリンおよびトレオニンからなる群より選択される、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項14】 前記N135に相当する位置におけるアミノ酸残基がセリンである、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項15】 前記T706に相当する位置におけるアミノ酸残基が、バリン、ロイシンおよびイソロイシンからなる群より選択される、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項16】 前記T706に相当する位置におけるアミノ酸残基がイソロイシンである、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項17】 20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の30%以上である、請求項1に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項18】 20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で65℃で1分

間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性の 10%以上である、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【請求項 19】 耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを調製する方法であって、

第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む第一の核酸分子を改変して、改変塩基配列を含む第二の核酸分子を得る工程；

該第二の核酸分子を含む発現ベクターを作製する工程；

該発現ベクターを細胞に導入して耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを発現させる工程；および

該発現された耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを回収する工程を包含し、

該第一の α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であり、

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置、135 位アスパラギン (N 135) に相当する位置および 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置において、該第一の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し、かつ

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを 20 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で 60℃で 10 分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性の 20%以上である、方法。

【請求項 20】 請求項 19 に記載の方法であって、

前記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置または 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置におけるアミノ酸残基が、前記第一の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なる、方法。

【請求項 21】 前記第一の α -グルカンホスホリラーゼが、タイプ L α

ーグルカンホスホリラーゼである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】 前記第一の α -グルカンホスホリラーゼが、タイプ H α -グルカンホスホリラーゼである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】 前記第一の α -グルカンホスホリラーゼが馬鈴薯由来である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】 請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む、核酸分子。

【請求項 25】 請求項 24 に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 26】 請求項 24 に記載の核酸分子を含む、細胞。

【請求項 27】 グルカンの合成方法であって、該方法は、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する、方法。

【請求項 28】 前記反応が、60℃～75℃の温度で行われる、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】 グルカンの合成方法であって、該方法は、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、プライマーと、グルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する、方法。

【請求項 30】 前記反応が、60℃～75℃の温度で行われる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】 グルコース-1-リン酸の合成方法であって、該方法は、請求項 1 に記載の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ、グルカンおよび無機リン酸を含む反応溶液を反応させて、グルコース-1-リン酸を生産する工程を包含する、方法。

【請求項 32】 前記反応が、60℃～75℃の温度で行われる、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】 植物由来の天然の α -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼであって、

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位

フェニルアラニン (F 3 9) に相当する位置、1 3 5 位アスパラギン (N 1 3 5) に相当する位置および 7 0 6 位トレオニン (T 7 0 6) に相当する位置からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し、

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを 20 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で 60℃ で 10 分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性の 20% 以上であり、かつ

該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、重量平均分子量 600 kDa 以上のアミロースを合成する能力を有する、
耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、耐熱性 α -グルカンホスホリラーゼおよびこの耐熱性 α -グルカンホスホリラーゼをコードする遺伝子に関する。さらに本発明は、耐熱性 α -グルカンホスホリラーゼの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

α -グルカンホスホリラーゼ (以下、GP とともいう) は、例えば、グルコース-1-リン酸 (以下、G-1-P とともいう) の合成、グルカン合成などに利用されている酵素である。G-1-P は例えば、医療用抗菌剤、抗腫瘍剤 (白金錯体)、心臓病の治療薬 (アミン塩)、グルカン合成の基質として利用されている。GP は、馬鈴薯塊茎などの植物、ウサギ筋肉などの動物、酵母などの微生物に広く分布している。

【0003】

なかでも植物由来の GP は、一般に高分子量のグルカンを合成する能力を有するので有用である。

【0004】

G-1-P またはグルカンの製造には、種々の GP が用いられ得、馬鈴薯由来の GP が用いられることが多い。なぜなら、比較的大量の酵素が得やすいからである。

【0005】

GP を用いた G-1-P またはグルカンの工業的な生産においては、GP 酵素に夾雑する他の酵素活性、特にホスファターゼ活性およびアミラーゼ活性をできるだけ除去する必要がある。GP を大量に製造するために、GP 遺伝子を発現させる宿主としては、大腸菌および枯草菌が望ましい。ところが、図 4 および図 5 に示したように、大腸菌はアミラーゼ活性およびホスファターゼ活性を、枯草菌はアミラーゼ活性をそれぞれ菌体内に有している。しかしながら、図 4 および 5 に示したように、これら宿主の有する酵素は、55℃の熱処理で失活させることはできないが、熱処理温度を 60℃にすると、ほぼ失活させることができる。したがって、60℃の熱処理でも活性を失わないという耐熱性を有する植物由来 GP が望まれていた。

【0006】

参考として、種々の細菌（大腸菌 TG-1 株、大腸菌 BL21 株、および枯草菌 ANA-1 株）の菌体抽出液中の加熱前および加熱後のアミラーゼ活性およびホスファターゼ活性の具体的な数値を以下の表 1 に示す。

【0007】

【表 1】

	ホスファターゼ		アミラーゼ		
	活性 (%)		活性 (%)		
	TG-1	BL21	TG-1	BL21	ANA-1
加熱前	100	100	100	100	100
50℃	99.1	98.6	21.6	28.6	33.8
55℃	60.9	74.5	9.1	9.7	19.8
60℃	2.9	3.1	0.4	0	3.0
65℃	2.5	2.0	0.9	0	2.4

【0008】

しかし、高分子量のグルカンを合成できる植物由来のGPで耐熱性を有するもの、特に高温（例えば、60℃～75℃）で十分な活性を維持できるGPは知られていない。植物以外の生物由来のGPについては、耐熱性の高いGPとして、高度好熱菌（*Thermus aquaticus*、*Thermococcus litoralis*、*Aquifex aeolicus*など）のGPが報告されている。しかし、このような植物以外の生物由来のGPは高分子量のグルカンを合成する能力を有さないため有用性が低い。

【0009】

GPはアミノ酸配列の相同性比較から、2つのグループに分けられる（非特許文献1を参照のこと）。GPは、アミノ酸配列を比較した場合に、馬鈴薯由来のGPと30%以上の同一性を有するGPのグループ（グループA）と、馬鈴薯由来のGPとは30%未満の同一性しか有さないが、*Thermus aquaticus*とは30%以上の同一性を有するGPのグループ（グループB）とに分けられる。

【0010】

グループBに属する*Thermus*由来のGPを用いて製造されるグルカンは、グループAに属する馬鈴薯由来のGPを用いて製造されるグルカンに比べて分

子量がかなり低い。そのため、Thermus 由来の GP を用いた場合では、高分子量のグルカンを得ることができないという問題がある。

【0011】

これらの問題を解決するために、工業的利用に有利な、耐熱性が高い、植物由来の GP が必要とされている。

【0012】

一方、一般的な酵素の耐熱化については、プロリンセオリー、酵素の立体構造情報に基づくアミノ酸置換などの理論的方法が試みられているが、必ずしも成功していない。そのため、現在でも依然として、ランダム変異による方法またはランダム変異と理論的方法との組み合わせによる方法が主に行われている。いずれの方法でも、それぞれのタンパク質ごとに試行錯誤的に試す必要がある。

【0013】

GP 以外の酵素に関しては、耐熱化にかかわる特定のアミノ酸の位置を決定できれば、特定した 1 箇所または複数箇所の位置のアミノ酸残基を他のアミノ酸残基に置換することによって、酵素を耐熱化できることが報告されている（例えば、非特許文献 3～5 を参照のこと）。

【0014】

耐熱化 GP の例は、大腸菌マルトデキストリンホスホリラーゼに関して報告されている（非特許文献 2 を参照のこと）。この文献においては、耐熱性大腸菌マルトデキストリンホスホリラーゼが開示されている。マルトデキストリンホスホリラーゼは、GP の一種である。この耐熱化 GP は、天然の GP と比較して、133 位のアスパラギンがアラニンに置換されている。この 133 位のアスパラギンは、グルコース結合部位の一部である。この耐熱性 GP は、天然の GP と比較して、耐熱性が約 15℃ 向上し、反応至適温度が約 45℃ から約 60℃ へと上昇し、そして約 67℃ で変性した。しかし、この大腸菌の GP も、Thermus 由来の GP と同様に、高分子量のグルカンを合成する能力を有さない。さらに、この文献に記載される耐熱化 GP の至適温度での酵素活性は、天然の GP の至適温度での酵素活性よりも低い。つまり、変異により、グルカンを合成する能力が低下している。それゆえ、この文献は、少なくともグルカン合成能の観点では 13

3位を置換することが好ましくないことを教示している。

【0015】

【非特許文献1】

Takeshi Takahara, 「Structure and Properties of Thermus aquaticus α -Glucan Phosphorylase Expressed in Escherichia coli」、J. Appl. Glycosci., 2001, Vol. 48, No. 1, pp. 71-78

【非特許文献2】

Richard Griepplerら著、「Mechanism of thermal denaturation of maltodextrin phosphorylase from Escherichia coli」、Biochem. J., 2000, 346, pp. 255-263

【非特許文献3】

Martin LehmannおよびMarkus Wyss著、「Engineering proteins for thermostability: the use of sequence alignments versus rational design and directed evolution」、Current Opinion in Biotechnology, 2001, 12, pp. 371-375

【非特許文献4】

M. Lehmannら著、「The consensus concept for thermostability engineering of proteins」、Biochimica Biophysica Acta, 2000, 1543, pp. 408-415

【非特許文献5】

Junichi Miyazakiら著、「Ancestral Residues Stabilizing 3-Isopropylmalate Dehydrogenase of an Extreme Thermo

phile: Experimental Evidence Supporting the Thermophilic Common Ancestor Hypothesis」、J. Biochem、2001、129、pp. 777-782

【0016】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記問題点の解決を意図するものであり、従来の α -グルカンホスホリラーゼよりも耐熱性が高い、植物由来の α -グルカンホスホリラーゼを提供することを目的とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、植物由来のGPの配列中の特定の位置のアミノ酸残基を置換することによって、耐熱性が向上した植物由来のGPが得られることを最終的に見出し、これに基づいて本発明を完成させた。

【0018】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、天然の α -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼであって、該天然の α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であり、該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼとは異なるアミノ酸残基を有し、かつ該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20mMクエン酸緩衝液(pH6.7)中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の20%以上である。

【0019】

1つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号2

のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置または 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置において、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し得る。

【0020】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列は、配列番号 2 の 1 位～916 位、配列番号 4 の 1 位～912 位、配列番号 6 の 1 位～893 位、配列番号 8 の 1 位～939 位、配列番号 10 の 1 位～962 位、配列番号 12 の 1 位～971 位、配列番号 14 の 1 位～983 位、配列番号 16 の 1 位～928 位、配列番号 18 の 1 位～951 位、配列番号 20 の 1 位～832 位、配列番号 22 の 1 位～840 位、配列番号 24 の 1 位～841 位、配列番号 26 の 1 位～842 位、配列番号 28 の 1 位～841 位および配列番号 30 の 1 位～838 位からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも 50% の同一性を有し得る。

【0021】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列は、配列番号 2 の 1 位～916 位、配列番号 4 の 1 位～912 位、配列番号 6 の 1 位～893 位、配列番号 8 の 1 位～939 位、配列番号 10 の 1 位～962 位、配列番号 12 の 1 位～971 位、配列番号 14 の 1 位～983 位、配列番号 16 の 1 位～928 位、配列番号 18 の 1 位～951 位、配列番号 20 の 1 位～832 位、配列番号 22 の 1 位～840 位、配列番号 24 の 1 位～841 位、配列番号 26 の 1 位～842 位、配列番号 28 の 1 位～841 位および配列番号 30 の 1 位～838 位からなる群より選択されるアミノ酸配列をコードする塩基配列からなる核酸分子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子によってコードされ得る。

【0022】

1つの実施形態では、上記塩基配列は、配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25 および配列番号 27 からなる群より選択され得る。

【0023】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼは、タイプL α -グルカンホスホリラーゼであり得る。

【0024】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼは、タイプH α -グルカンホスホリラーゼであり得る。

【0025】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列は、配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位からなる群より選択され得る。

【0026】

1つの実施形態では、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼは、馬鈴薯由来であり得る。

【0027】

1つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも2つの位置において、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し得る。

【0028】

1つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)

）に相当する位置において、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し得る。

【0029】

1つの実施形態では、上記F39に相当する位置におけるアミノ酸残基は、バリン、ロイシンおよびイソロイシンからなる群より選択され得る。

【0030】

1つの実施形態では、上記F39に相当する位置におけるアミノ酸残基は、ロイシンであり得る。

【0031】

1つの実施形態では、上記N135に相当する位置におけるアミノ酸残基は、セリンおよびトレオニンからなる群より選択され得る。

【0032】

1つの実施形態では、上記N135に相当する位置におけるアミノ酸残基は、セリンであり得る。

【0033】

1つの実施形態では、上記T706に相当する位置におけるアミノ酸残基は、バリン、ロイシンおよびイソロイシンからなる群より選択され得る。

【0034】

1つの実施形態では、上記T706に相当する位置におけるアミノ酸残基は、イソロイシンであり得る。

【0035】

1つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性は、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の30%以上であり得る。

【0036】

1つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で65℃で1分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性は、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホ

スホリラーゼの 37℃における酵素活性の 10%以上であり得る。

【0037】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを調製する方法は、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む第一の核酸分子を改変して、改変塩基配列を含む第二の核酸分子を得る工程；該第二の核酸分子を含む発現ベクターを作製する工程；該発現ベクターを細胞に導入して耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを発現させる工程；および該発現された耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを回収する工程を包含し、該第一の α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であり、該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置、135 位アスパラギン (N 135) に相当する位置および 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置からなる群より選択される少なくとも 1 つの位置において、該第一の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し、かつ該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを 20 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で 60℃で 10 分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃における酵素活性の 20%以上である。

【0038】

1 つの実施形態では、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの、配列番号 2 のアミノ酸配列の 39 位フェニルアラニン (F 39) に相当する位置または 706 位トレオニン (T 706) に相当する位置におけるアミノ酸残基は、上記第一の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なり得る。

【0039】

1 つの実施形態では、上記第一の α -グルカンホスホリラーゼは、タイプ L α -グルカンホスホリラーゼであり得る。

【0040】

1 つの実施形態では、上記第一の α -グルカンホスホリラーゼは、タイプ H α -グルカンホスホリラーゼであり得る。

【0041】

1つの実施形態では、上記第一の α -グルカンホスホリラーゼは、馬鈴薯由来であり得る。

【0042】

本発明の核酸分子は、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む。

【0043】

本発明のベクターは、上記核酸分子を含む。

【0044】

本発明の細胞は、上記核酸分子を含む。

【0045】

本発明のグルカンの合成方法は、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する。

【0046】

1つの実施形態では、上記反応は、60℃～75℃の温度で行われ得る。

【0047】

本発明のグルカンの合成方法は、上記の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、プライマーと、グルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する。

【0048】

1つの実施形態では、上記反応は、60℃～75℃の温度で行われ得る。

【0049】

本発明のグルコース-1-リン酸の合成方法は、上記耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ、グルカンおよび無機リン酸を含む反応溶液を反応させて、グルコース-1-リン酸を生産する工程を包含する。

【0050】

1つの実施形態では、上記反応は、60℃～75℃の温度で行われ得る。

【0051】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来の天然の α -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼであつて、該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有し、該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20mMクエン酸緩衝液(pH6.7)中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の20%以上であり、かつ該耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、重量平均分子量600kDa以上のアミロースを合成する能力を有する。

【0052】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を説明する。本明細書の全体にわたり、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。

【0053】

(1. α -グルカンホスホリラーゼ)

本明細書において「 α -グルカンホスホリラーゼ」および「GP」は特に示さない限り互換可能に用いられ、 α -グルカンホスホリラーゼ活性を有する酵素を意味する。 α -グルカンホスホリラーゼは、EC2.4.1.1に分類される。 α -グルカンホスホリラーゼ活性とは、無機リン酸と α -1,4-グルカンとから、グルコース-1-リン酸および α -1,4-グルカンの部分分解物とを作る反応またはその逆反応を触媒する活性をいう。 α -グルカンホスホリラーゼは、ホスホリラーゼ、スターチホスホリラーゼ、グリコーゲンホスホリラーゼ、マルトデキストリンホスホリラーゼなどと呼ばれる場合もある。 α -グルカンホスホリラーゼは、加リン酸分解の逆反応である α -1,4-グルカン合成反応をも触媒し得る。反応がどちらの方向に進むかは、基質の量に依存する。生体内では、

無機リン酸の量が多いので、グルカンホスホリラーゼは加リン酸分解の方向に反応が進む。無機リン酸の量が少ないと、 α -1, 4-グルカンの合成の方向に反応が進む。

【0054】

全ての既知の α -グルカンホスホリラーゼは、活性のためにピリドキサル 5'-リン酸を必要とし、そして類似した触媒機構を共有するようである。異なった起源に由来する酵素は、基質の優先性および調節形態が異なっているが、全ての α -グルカンホスホリラーゼは、多数の α -グルカンホスホリラーゼを含む大きなグループに属する。この大きなグループは、細菌、酵母および動物由来のグリコーゲンホスホリラーゼ、植物由来のデンプンホスホリラーゼ、ならびに細菌由来のマルトデキストリンホスホリラーゼを含む。

【0055】

α -グルカンホスホリラーゼのグルカン合成反応のための最小のプライマー分子はマルトテトラオースであることが報告されている。グルカン分解反応のために有効な最小の基質はマルトペンタオースであることも報告されている。一般に、これらは、 α -グルカンホスホリラーゼに共通の特徴であると考えられていた。しかし、近年、*Thermus thermophilus* 由来の α -グルカンホスホリラーゼおよび*Thermococcus litoralis* 由来の α -グルカンホスホリラーゼは、他の α -グルカンホスホリラーゼとは異なる基質特異性を有すると報告されている。これらの α -グルカンホスホリラーゼについては、グルカン合成についての最小のプライマーがマルトトリオースであり、グルカン分解についての最小の基質がマルトテトラオースである。

【0056】

α -グルカンホスホリラーゼは、デンプンまたはグリコーゲンを貯蔵し得る種々の植物、動物および微生物中に普遍的に存在すると考えられる。

【0057】

α -グルカンホスホリラーゼを産生する植物の例としては、馬鈴薯（ジャガイモともいう）、サツマイモ、ヤマイモ、サトイモ、キャッサバなどの芋類、キャベツ、ホウレンソウなどの野菜類、トウモロコシ、イネ、コムギ、オオムギ、ラ

イムギ、アワなどの穀類、ソラマメ、エンドウマメ、ダイズ、アズキ、ウズラマメなどの豆類、シロイヌナズナなどの実験植物、Citrus hybrid cultivar、藻類などが挙げられる。

【0058】

α -グルカンホスホリラーゼを産生する生物はこれらに限定されない。

【0059】

本発明の方法に用いられる α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来であることが好ましい。一般に、植物由来の天然の α -グルカンホスホリラーゼは、高分子量のアミロースを合成する能力を有する。しかし、これらの α -グルカンホスホリラーゼは耐熱性がない。そのため、高温（例えば、約60℃以上）では反応を触媒できない。そのため、馬鈴薯由来のGPの反応至適温度に合わせて反応を約30℃～約40℃で行うと、雑菌汚染という問題またはグルカンの老化という問題が生じ、グルカンまたはG-1-Pを効率よく生産できない。

【0060】

植物の α -グルカンホスホリラーゼは、グリコーゲンへの親和性によって、タイプLとタイプHとに分けられる。タイプL α -グルカンホスホリラーゼとは、グリコーゲンへの親和性が低い α -グルカンホスホリラーゼをいう。一般に、タイプLの α -グルカンホスホリラーゼは、基質として、グリコーゲンよりも、マルトデキストリン、アミロースおよびアミロペクチンを好む（Hiroyuki Moriら著、「A Chimeric α -Glucan Phosphorylase of Plant Type L and H Isozymes」、The Journal of Biological Chemistry、1993、vol. 268, No. 8, pp. 5574-5581）。タイプH α -グルカンホスホリラーゼとは、グリコーゲンへの親和性が高い α -グルカンホスホリラーゼをいう。一般に、タイプH α -グルカンホスホリラーゼは、グリコーゲンを含め、種々のグルカンについての極めて高い親和性を有する。

【0061】

例えば、Toshio Fukuiら、Biochemistry of V

itamin B₆、1987、267-276頁によれば、馬鈴薯の葉由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの、グリコーゲンへのK_m（ミカエリス定数）は、 1.4×10^{-3} (M) であり、一方、馬鈴薯の葉由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼの、グリコーゲンへのK_mは、 4×10^{-6} (M) である。また、馬鈴薯の塊茎由来の α -グルカンホスホリラーゼの主成分の、グリコーゲンへのK_mは、 2.4×10^{-3} (M) であり、タイプLに分類される。副成分の α -グルカンホスホリラーゼの、グリコーゲンへのK_mは、 1×10^{-6} (M) であり、タイプHに分類される。

【0062】

当該分野で公知のように、ミカエリス定数は、酵素反応における初速度の基質濃度依存性から得られる動力学パラメーターの一つである。ミカエリス定数は、初速度が最大速度V_{max}の1/2になる時の基質濃度である。ミカエリス定数は、濃度の次元を有する。ミカエリス定数は、それぞれの測定条件下で各酵素に特有の定数である。この定数は、各酵素の基質への親和性を表す尺度となる。ミカエリス定数が小さいほど、基質への親和性は大きい。

【0063】

タイプLの α -グルカンホスホリラーゼとタイプHの α -グルカンホスホリラーゼとでは、例えば、以下のような性質の違いを有する。

【0064】

【表 2】

	タイプL GP	タイプH GP
馬鈴薯塊茎由来のGPの主成分に対する抗体の交差反応性	あり	なし
馬鈴薯塊茎由来のGPの副成分に対する抗体の交差反応性	なし	あり
タンパク質分解に対する感受性	高い	低い
存在位置	プラスチド (アミロプラスト または葉緑体)	細胞質ゾル

【0065】

本発明の方法に用いられる α -グルカンホスホリラーゼは、特定の実施形態では、タイプL (Type Lとも示される) α -グルカンホスホリラーゼであることがさらに好ましい。馬鈴薯のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼは、馬鈴薯のタイプHのグルカンホスホリラーゼと比較して長く、ポリペプチド鎖の中央に、タイプHには見られない78残基のアミノ酸配列が挿入されている。そのため、例えば、馬鈴薯の葉由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのサブユニットの分子量は約104,000であり、馬鈴薯の葉由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのサブユニットの分子量は約94,000である。馬鈴薯の塊茎由来の α -グルカンホスホリラーゼの主成分のサブユニットの分子量は約104,000であり、馬鈴薯の塊茎由来の α -グルカンホスホリラーゼの副成分のサブユニットの分子量は約94,000である。特定の α -グルカンホスホリラーゼがタイプLであるかタイプHであるかは、実際に親和性を測定せずに、この78残基のアミノ酸配列と相同な領域を有するか否かによっても推定され得る。

【0066】

一般に、タイプLとタイプHとは、酵素の性質として、酵素活性、分子量、基質特異性、酵素の所在、一次配列の相同性、挿入配列の存在などを総合的に勘案

して決定される。従って、一般的には、タイプLとタイプHとの境界は明確でない場合もあるが、便宜上、本発明においては、その α -グルカンホスホリラーゼがタイプLであるかタイプHであるかは、 α -グルカンホスホリラーゼ中のトランジットペプチドの存在によって決定され得る。トランジットペプチドの配列の特徴は当該分野で公知である。トランジットペプチドの配列をコードしているものがタイプLであり、トランジットペプチドの配列をコードしていないものがタイプHである。

【0067】

タイプL α -グルカンホスホリラーゼを産生する植物の例としては、馬鈴薯（ジャガイモともいう）、サツマイモ、ソラマメ、シロイヌナズナ、ホウレンソウ、トウモロコシ、イネなどが挙げられる。

【0068】

本発明の方法に用いられる α -グルカンホスホリラーゼは、別の実施形態では、タイプH（Type Hとも示される） α -グルカンホスホリラーゼであることが好ましい。タイプH α -グルカンホスホリラーゼを産生する植物の例としては、馬鈴薯、コムギ、Citrus hybrid cultivar、イネ、ソラマメ、シロイヌナズナ、サツマイモなどが挙げられる。

【0069】

馬鈴薯の天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号1に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号2の1位～916位に示す。

【0070】

サツマイモの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号3に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号4の1位～912位に示す。

【0071】

馬鈴薯の別の天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号5に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号6の1位～893位に示す。

【0072】

ソラマメの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号7に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号8の1位～939位に示す。

【0073】

シロイヌナズナの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号9に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号10の1位～962位に示す。

【0074】

ハウレンソウの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号11に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号12の1位～971位に示す。

【0075】

トウモロコシの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号13に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号14の1位～983位に示す。

【0076】

イネの天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号15に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号16の1位～928位に示す。

【0077】

イネの別の天然のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号17に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号18の1位～951位に示す。

【0078】

小麦の天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号19に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号20の1位～832位に示す。

【0079】

Citrus hybrid cultivarの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号21に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号22の1位～840位に示す。

【0080】

イネの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号23に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号24の1位～841位に示す。

【0081】

ソラマメの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号25に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号26の1位~842位に示す。

【0082】

シロイヌナズナの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号27に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号28の1位~841位に示す。

【0083】

馬鈴薯の天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのcDNA配列を配列番号29に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号30の1位~838位に示す。

【0084】

サツマイモの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼの部分配列のcDNA配列を配列番号31に示し、そしてアミノ酸配列を配列番号32に示す。サツマイモの天然のタイプH α -グルカンホスホリラーゼの完全配列は、この部分配列を元にして従来の方法に従って得ることができる。

【0085】

本発明の方法に用いられる天然の α -グルカンホスホリラーゼは、馬鈴薯、サツマイモ、ソラマメ、シロイヌナズナ、ハウレンソウ、トウモロコシ、イネ、小麦またはCitrus hybrid cultivarに由来することが好ましく、馬鈴薯、サツマイモ、ソラマメ、シロイヌナズナ、ハウレンソウ、トウモロコシまたはイネに由来することがより好ましく、馬鈴薯に由来することが最も好ましい。本発明の方法に用いられる天然の α -グルカンホスホリラーゼは、タイプLの α -グルカンホスホリラーゼであることが好ましい。本発明の方法に用いられる天然の α -グルカンホスホリラーゼは、馬鈴薯のタイプL、L2もしくはH、サツマイモのタイプLもしくはH、ソラマメのタイプLもしくはH、シロイヌナズナのタイプLもしくはH、ハウレンソウのタイプL、トウモロコシのタイプL、イネのタイプLもしくはH、小麦のタイプHまたはCitrus hybrid cultivarのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼであるこ

とが好ましく、馬鈴薯のタイプLもしくはL2、サツマイモのタイプL、ソラマメのタイプL、シロイヌナズナのタイプL、ホウレンソウのタイプL、トウモロコシのタイプLまたはイネのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼであることがより好ましく、馬鈴薯のタイプL α -グルカンホスホリラーゼであることが最も好ましい。

【0086】

本明細書中では、酵素がある生物に「由来する」とは、その生物から直接単離したことのみに意味するのではなく、その生物を何らかの形で利用することによりその酵素が得られることをいう。例えば、その生物から入手したその酵素をコードする遺伝子を大腸菌に導入して、その大腸菌から酵素を単離する場合も、その酵素はその生物に「由来する」という。

【0087】

馬鈴薯由来タイプL GPの遺伝子は例えば、次の手順により調製できる。

【0088】

まず、Takahara (Journal of Biological Chemistry, 268巻、1391-1396頁、1993年) が記載しているように、馬鈴薯塊茎より、mRNAを周知の方法で調製し、cDNAライブラリーを市販のキットなどを用いて作製する。

【0089】

次に既知のGP遺伝子配列 (データベースGenBank アクセションナンバーD00520) を基に、PCRプライマーを調製し、上述のcDNAライブラリーを鋳型として、PCRを行う。例えばPCRプライマーとして

PCRプライマー1: 5' AAATCGATAGGAGGAAAACAT AT
G ACC TTG AGT GAG AAA AT 3'

および

PCRプライマー2: 5' GAAGGTACCTTTTCATTCACTTCC
CCCTC 3'

を用いたときは、以下の条件で遺伝子を増幅できる。

【0090】

94℃で30秒、50℃で1分、72℃で3分を1サイクルとして、30サイクルのPCR反応。

【0091】

なおPCRプライマー1のアンダーラインの部分が、タイプL GPの成熟タンパク質のN末端部分の構造遺伝子配列に対応しており、PCRプライマー2のアンダーラインの部分が、タイプL GP構造遺伝子の終止コドン直後の遺伝子配列に対応している。

【0092】

また、既知のGP遺伝子配列情報をもとに、cDNAライブラリー作製をへることなく、化学合成により直接GP遺伝子を作製することも可能である。遺伝子の合成方法は、例えばTe'oら (FEMS Microbiological Letters、190巻、13-19頁、2000年) などに記載されている。

【0093】

得られたGP遺伝子は、当業者に周知の方法で、適切なベクターに挿入できる。例えば、大腸菌用のベクターであれば、pMW118 (日本ジーン株式会社製)、pUC18 (タカラバイオ (株) 製)、pKK233-2 (Amersham-Pharmacia-Biotech製)、pET3d (STRATAGENE製) などが使用でき、枯草菌用のベクターであれば、pUB110 (American Type Culture Collectionから購入可能)、pHY300PLK (タカラバイオ (株) 製) などが使用できる。

【0094】

例えば、上記のPCRプライマー1および2を用いて遺伝子を増幅した場合、増幅された遺伝子をSmaIであらかじめ切断したプラスミドpMW118に挿入することにより、図2のような配列をもった、プラスミドを選択できる。これを用いて例えば、大腸菌TG-1を形質転換して、アンピシリン耐性株を選択し、得られた組換えプラスミド保持株を培養することにより、GPを得ることができる。

【0095】

(2. α -グルカンホスホリラーゼの耐熱化)

本発明の方法は、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む第一の核酸分子を改変して、改変塩基配列を含む第二の核酸分子を得る工程；該第二の核酸分子を含む発現ベクターを作製する工程；該発現ベクターを細胞に導入して耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを発現させる工程；および該発現された耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを回収する工程を包含する。

【0096】

(2. 1 天然の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子の単離)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子もまた、本発明の範囲内にある。このような核酸分子は、本明細書の開示に基づいて、当該分野で公知の方法を用いて得ることができる。

【0097】

天然の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子は、上記のような自然界に存在する、 α -グルカンホスホリラーゼを産生する植物から直接単離され得る。

【0098】

例えば、まず、馬鈴薯、ホウレンソウなどから天然の α -グルカンホスホリラーゼが単離される。馬鈴薯の α -グルカンホスホリラーゼについての手順を例示すると、最初に、市販されている馬鈴薯塊茎 1.4 kg の皮をむく。皮をむいた塊茎をジューサーですりつぶしてすりつぶし液を得る。次いで、このすりつぶし液をガーゼで濾過して濾液を得る。濾液に、T r i s 緩衝液 (pH 7.0) を最終濃度 100 mM になるように加えて、酵素液を得る。この酵素液を、55℃の水浴中で、液温が 50℃に達してからさらに 10 分間加熱する。加熱後、この酵素液を、遠心機 (ベックマン社製、A V A N T I J - 2 5 I) を用いて、8,500 rpm にて、20 分間遠心分離し、不溶性のタンパク質などを除去し、上清を得る。

【0099】

得られた遠心上清に、硫酸アンモニウムを 100 g/L になるように加えてか

ら、4℃にて2時間放置し、タンパク質を沈澱させる。次いで、遠心機（ベックマン社製、AVANTI J-25I）を用いて、8,500rpmにて20分間遠心分離し、不溶性のタンパク質などを除去し、上清を得る。さらに、得られた上清に硫酸アンモニウムを最終濃度250g/Lになるように加えてから、4℃にて2時間放置し、タンパク質を沈澱させる。次いで、遠心機（ベックマン社製、AVANTI J-25I）を用いて、8,500rpm、20分間遠心分離し、不溶性のタンパク質を回収する。

【0100】

回収された不溶性のタンパク質を25mM Tris緩衝液（pH7.0）150mlで懸濁する。懸濁した酵素液を同じ緩衝液に対して一晚透析する。透析後のサンプルを、あらかじめ平衡化しておいた陰イオン交換樹脂Q-Sepharose（ファルマシア社製）に吸着させ、200mM塩化ナトリウムを含む緩衝液で洗浄する。続いて、400mM塩化ナトリウムを含む緩衝液で溶出させ、溶出液を回収し、部分精製馬鈴薯塊茎由来グルカンホスホリラーゼ含有溶液とする。

【0101】

購入した馬鈴薯によっては、この段階でトリプシン処理に用い得る α -グルカンホスホリラーゼ含有溶液になるが、さらなる精製を必要とする場合がある。このような場合、必要に応じて、Sephadryl S-200HR（ファルマシア社製）などを用いたゲルフィルトレーションクロマトグラフィーによる分画、Phenyl-TOYOPEARL 650M（東ソー社製）などを用いた疎水クロマトグラフィーによる分画を組み合わせることにより、精製馬鈴薯 α -グルカンホスホリラーゼ含有溶液を得ることができる。他の植物種からの α -グルカンホスホリラーゼの精製も同様に行い得る。

【0102】

このようにして得た精製 α -グルカンホスホリラーゼをトリプシン処理して、得られるトリプシン処理断片をHPLCにより分離し、分離されたいずれかのペプチド断片のN末端のアミノ酸配列を、ペプチドシーケンサーにより同定する。次いで、同定したアミノ酸配列をもとに作製した合成オリゴヌクレオチドプロ

ープを用いて、適切なゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、天然の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子（遺伝子ともいう）を得ることができる。オリゴヌクレオチドプローブおよびDNAライブラリーを調製するための、ならびに核酸のハイブリダイゼーションによりそれらをスクリーニングするための基本的な戦略は、当業者に周知である。例えば、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1989); DNA Cloning, 第IおよびII巻 (D. N. Glover編 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait編 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins編 1984) を参照のこと。

【0103】

あるいは、既知の種の α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列に対する相同性に基づいて、この塩基配列の少なくとも一部を含む核酸プローブを用いたハイブリダイゼーションによってスクリーニングして、別種の α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列を含む核酸分子を獲得することもできる。このような方法は当該分野で公知である。

【0104】

あるいは、種々の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列において保存された領域に対応する縮重プライマーを作製して、PCRによって α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列を獲得することも可能である。このような方法は当該分野で公知である。

【0105】

ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリーをスクリーニングする場合、得られた核酸分子は、当業者に周知の方法を用いてサブクローニングされ得る。例えば、目的の遺伝子を含む λ ファージと、適切な大腸菌と、適切なヘルパーファージとを混合することにより、容易に目的の遺伝子を含有するプラスミドを得ることができる。その後、プラスミドを含有する溶液を用いて、適切な大腸菌を形質転換することにより、目的の遺伝子をサブクローニングし得る。得られた形

質転換体を培養して、例えばアルカリ SDS 法によりプラスミド DNA を得、目的の遺伝子の塩基配列を決定し得る。塩基配列を決定する方法は、当業者に周知である。さらに、DNA フラグメントの塩基配列を基に合成された PCR プライマーを用い、馬鈴薯などのゲノム DNA または cDNA を鋳型に、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を用いて直接 α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子を増幅することもできる。

【0106】

本明細書において「核酸分子」は、天然のヌクレオチドのみからなっているだけでなく、非天然のヌクレオチドを含んでもよく、非天然のヌクレオチドのみからなっているもよい。非天然のヌクレオチドの例としては、誘導体ヌクレオチド (ヌクレオチドアナログともいう) が挙げられる。「誘導体ヌクレオチド」および「ヌクレオチドアナログ」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2- O -メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸 (PNA) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0107】

(2. 2 第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む第一の核酸分子の改変)

第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む第一の核酸分子を改変して、改変塩基配列を含む第二の核酸分子を得る。第一の核酸分子は、上記 (2. 1) のようにして得た、天然の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子であり得る。第一の核酸分子はまた、天然の α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性と実質的に同様の酵素活性を有し、天然の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列に対して 1 もしくは数個またはそれを超えるアミノ酸が置換、欠失もしくは付加された α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子であり得る。「実質的に同様の酵素活性

を有する」とは、改変後の α -グルカンホスホリラーゼを、改変前の α -グルカンホスホリラーゼと同一条件下で測定したときの酵素活性が、改変前の α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性の $\pm 20\%$ 以内であることをいう。好ましくは $\pm 10\%$ 以内、より好ましくは $\pm 5\%$ 以内である。

【0108】

改変は、当該分野で周知の方法を用いて、例えば、部位特異的変異誘発法、変異原を用いた変異誘発法（対象遺伝子を亜硝酸塩などの変異剤で処理すること、紫外線処理を行うこと）、エラープローンPCRを行うことなどによって行われ得る。目的の変異を得やすい点から、部位特異的変異誘発を用いることが好ましい。部位特異的変異誘発を用いれば、目的とする部位で目的とする改変を導入することができるからである。あるいは、目的とする配列をもつ核酸分子を直接合成してもよい。そのような化学合成の方法は、当該分野において周知である。

【0109】

本発明の方法においては、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子は、改変核酸分子によってコードされる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼが、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置、135位アスパラギン（N135）に相当する位置および706位トレオニン（T706）に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有するように改変される。好ましくは、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子は、改変核酸分子によってコードされる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置または706位トレオニン（T706）に相当する位置におけるアミノ酸配列が、上記天然の α -グルカンホスホリラーゼとは異なるように改変される。

【0110】

本明細書中で用いられる「配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置」とは、対象のアミノ酸配列と配列番号2のアミノ酸配列とを相同性が最も高くなるように、必要に応じて一方の配列にギャップを

挿入して並べた場合に、配列番号2の39位のフェニルアラニンと並置される位置をいう。なお、配列番号2にギャップが挿入された場合にそのギャップはアミノ酸残基の数として数えない。より好ましくは、GENETYX-WIN Ver. 4.0のマルチプルアライメントにおいて、デフォルトのスコアテーブルを用い、GAP Penalty (Peptide) : Insert=-10、Extend=-3、gap Extend on top position: 設定あり(チェック)、Match Mode: Local Matchの条件で配列番号2のアミノ酸配列と対象のアミノ酸配列とをアライメントした場合に、配列番号2の39位のフェニルアラニンと並置される位置をいう。アミノ酸についてのデフォルトのスコアテーブルを以下の表3に示す。

【0111】

【表3】

C	12,
S	0, 2,
T	-2, 1, 3,
P	-3, 1, 0, 6,
A	-2, 1, 1, 1, 2,
G	-3, 1, 0, -1, 1, 5,
N	-4, 1, 0, -1, 0, 0, 2,
D	-5, 0, 0, -1, 0, 1, 2, 4,
E	-5, 0, 0, -1, 0, 0, 1, 3, 4,
Q	-5, -1, -1, 0, 0, -1, 1, 2, 2, 4,
H	-3, -1, -1, 0, -1, -2, 2, 1, 1, 3, 6,
R	-4, 0, -1, 0, -2, -3, 0, -1, -1, 1, 2, 6,
K	-5, 0, 0, -1, -1, -2, 1, 0, 0, 1, 0, 3, 5,
M	-5, -2, -1, -2, -1, -3, -2, -3, -2, -1, -2, 0, 0, 6,
I	-2, -1, 0, -2, -1, -3, -2, -2, -2, -2, -2, -2, 2, 5,
L	-6, -3, -2, -3, -2, -4, -3, -4, -3, -2, -2, -3, -3, 4, 2, 6,
V	-2, -1, 0, -1, 0, -1, -2, -2, -2, -2, -2, -2, 2, 4, 2, 4,
F	-4, -3, -3, -5, -4, -5, -4, -6, -5, -5, -2, -4, -5, 0, 1, 2, -1, 9,
Y	0, -3, -3, -5, -3, -5, -2, -4, -4, -4, 0, -4, -4, -2, -1, -1, -2, 7, 10,
W	-8, -2, -5, -6, -6, -7, -4, -7, -7, -5, -3, 2, -3, -4, -5, -2, -6, 0, 0, 17,
B	-4, 0, 0, -1, 0, 0, 2, 3, 2, 1, 1, -1, 1, -2, -2, -3, -2, -5, -3, -5, 2,
Z	-5, 0, -1, 0, 0, -1, 1, 3, 3, 3, 2, 0, 0, -2, -2, -3, -2, -5, -4, -6, 2, 3,
X	0, 0,
	C S T P A G N D E Q H R K M I L V F Y W B Z X

【0112】

GENETYX-WIN Ver. 4.0のマルチプルアライメントは、以下のようなアルゴリズムに基づいている。このアライメントプログラムは、アライ

メントする対象の全ての配列について総当りで2配列のアライメントを行い（ペアワイズアライメント）、その中から共通する配列の保存割合（ペアワイズアライメントにおけるスコア）が高い組み合わせの配列について、共通の配列から仮想配列（共通部分はそのまま、一致しない部分はどちらか一方の配列を選択する）を作成する。仮想配列を構成する配列を除く全ての配列と仮想配列との総当りを同じ手順で、最後の仮想配列が作られるまで繰り返す。その後、仮想配列が作られるときのGAPの挿入およびずれの情報を、もとの配列に対して適用して全体を構成することによってマルチアライメントを完成させる。このペアワイズアライメントの計算式は以下のとおりである。

【0113】

配列長がそれぞれm、nの配列a、bがあり、それぞれの配列を

【0114】

【数1】

$a = a_1 \ a_2 \ a_3 \ \dots \ a_m$

$b = b_1 \ b_2 \ b_3 \ \dots \ b_m$

【0115】

と表現するとき、GAPペナルティgは次の式で表される：

$-g = s(a_i, \phi) = s(\phi, b_j)。$

【0116】

アライメントのスコアを得るための式は以下のとおりである：

【0117】

【数2】

$G(0, 0) = 0$

$G(i, 0) = i(-g)$

$G(0, j) = j(-g)$

$-g_k = -[\alpha + \beta(k-1)]$

$E(i, j) = \max[G(i-1, j) - \alpha, E(i-1, j) - \beta]$

$F(i, j) = \max[G(i, j-1) - \alpha, F(i, j-1) - \beta]$

$G(i, j) = \max[E(i, j), G(i-1, j-1) + s(a_i, b_j), F(i, j)]$

【0118】

α はGAP挿入のペナルティであり、 β はGAP伸長のペナルティである。E

、F、Gはスコア行列であり、これを基にパス行列が作成される。

【0119】

135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置についても同様に解釈される。

【0120】

GENETYX-WIN Ver. 4.0のマルチプルアライメントにおいて、上記の条件で、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28および配列番号30を配列番号2とアライメントした場合、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置にはフェニルアラニンまたはチロシンが、135位アスパラギン(N135)に相当する位置にはアスパラギンが、そして706位トレオニン(T706)に相当する位置にはトレオニン、アスパラギンまたはアスパラギン酸が並置された。このアライメントの結果を図1A～図1Iに示す。図1A～図1Iにおいて、「馬鈴薯タイプL」は、馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号2)を示す。「馬鈴薯タイプL2」は、馬鈴薯由来の第2のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号6)を示す。「サツマイモタイプL」は、サツマイモ由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号4)を示す。「シロイヌナズナタイプL」は、シロイヌナズナ由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号10)を示す。「トウモロコシタイプL」は、トウモロコシ由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号14)を示す。「イネタイプL」は、イネ由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号16)を示す。「イネタイプL2」は、イネ由来の第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号18)を示す。「ソラマメタイプL」は、ソラマメ由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号8)を示す。「ハウレンソウ」は、ハウレンソウ由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列(配列番号12)を示す。「馬鈴薯タイプH」は、馬鈴薯由来のタイ

ブH α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号30）を示す。「シロイヌナズナタイプH」は、シロイヌナズナ由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号28）を示す。「イネタイプH」は、イネ由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号24）を示す。「ソラマメタイプH」は、ソラマメ由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号26）を示す。「コムギ」は、コムギ由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号20）を示す。「CitrusタイプH」は、Citrus hybrid cultivar由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号22）を示す。「EcoliMQ」は、大腸菌由来のマルトデキストリンホスホリラーゼのアミノ酸配列（配列番号35）を示す。マルトデキストリンホスホリラーゼは、 α -グルカンホスホリラーゼの一種である。

【0121】

例えば、サツマイモ由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置は、配列番号4のアミノ酸配列の39位であり、135位アスパラギン（N135）に相当する位置は、配列番号4のアミノ酸配列の135位であり、そして706位トレオニン（T706）に相当する位置は、配列番号4のアミノ酸配列の702位である。

【0122】

例えば、馬鈴薯由来の第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号6のアミノ酸配列の11位であり、N135に相当する位置は、配列番号6のアミノ酸配列の107位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号6のアミノ酸配列の683位である。

【0123】

例えば、ソラマメ（Fava bean）由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号8のアミノ酸配列の43位であり、N135に相当する位置は、配列番

号8のアミノ酸配列の139位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号8のアミノ酸配列の729位である。

【0124】

例えば、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号10のアミノ酸配列の106位であり、N135に相当する位置は、配列番号10のアミノ酸配列の202位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号10のアミノ酸配列の752位である。

【0125】

例えば、ハウレンソウ由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号12のアミノ酸配列の112位であり、N135に相当する位置は、配列番号12のアミノ酸配列の208位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号12のアミノ酸配列の761位である。

【0126】

例えば、トウモロコシ由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号14のアミノ酸配列の95位であり、N135に相当する位置は、配列番号14のアミノ酸配列の191位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号14のアミノ酸配列の773位である。

【0127】

例えば、イネ由来のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号16のアミノ酸配列の41位であり、N135に相当する位置は、配列番号16のアミノ酸配列の137位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号16のアミノ酸配列の718位である。

【0128】

例えば、イネ由来の別のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、

配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号18のアミノ酸配列の91位であり、N135に相当する位置は、配列番号18のアミノ酸配列の187位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号18のアミノ酸配列の741位である。

【0129】

例えば、コムギ由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号20のアミノ酸配列の31位であり、N135に相当する位置は、配列番号20のアミノ酸配列の127位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号20のアミノ酸配列の622位である。

【0130】

例えば、Citrus hybrid cultivar由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号22のアミノ酸配列の42位であり、N135に相当する位置は、配列番号22のアミノ酸配列の138位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号22のアミノ酸配列の630位である。

【0131】

例えば、イネ由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号24のアミノ酸配列の39位であり、N135に相当する位置は、配列番号24のアミノ酸配列の135位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号24のアミノ酸配列の631位である。

【0132】

例えば、ソラマメ由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号26のアミノ酸配列の43位であり、N135に相当する位置は、配列番号26のアミノ酸配列の139位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号26のアミノ酸配列の632位である。

【0133】

例えば、シロイヌナズナ由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号28のアミノ酸配列の40位であり、N135に相当する位置は、配列番号28のアミノ酸配列の136位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号28のアミノ酸配列の631位である。

【0134】

例えば、馬鈴薯由来のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼにおいては、配列番号2のアミノ酸配列のF39に相当する位置は、配列番号30のアミノ酸配列の36位であり、N135に相当する位置は、配列番号30のアミノ酸配列の133位であり、そしてT706に相当する位置は、配列番号30のアミノ酸配列の628位である。

【0135】

配列表の配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位に示されるアミノ酸配列をコードする塩基配列を含む核酸分子に対して改変を行って得られる改変塩基配列を含む核酸分子は、本発明の範囲内にある。

【0136】

配列表の配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27または配列番号29に示される塩基配列を含む核酸分子に対して改変を行って得られる改変塩基配列を含む核酸分子は、本発明の範囲内にある。

【0137】

配列表の配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番

号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位からなる群より選択されるアミノ酸配列と少なくとも50%の同一性を有するアミノ酸配列をコードする塩基配列を含む核酸分子に対して改変を行って得られる改変塩基配列を含む核酸分子は、本発明の範囲内にある。

【0138】

本発明において、アミノ酸配列、塩基配列などの配列の「同一性」とは、2つの配列の間で同一のアミノ酸（塩基配列を比較する場合は塩基）の出現する程度をいう。一般に、2つのアミノ酸または塩基の配列を比較して、付加または欠失を含み得る最適な様式で整列されたこれら2つの配列を比較することによって決定される。同一性パーセントは、アミノ酸（塩基配列を比較する場合は塩基）がこの2つの配列間で同一である位置の数を決定し、比較した位置の総数で同一の位置の数を除算し、そしてこれら2つの配列間の同一性パーセントを得るために、得られた結果に100を掛けることによって算出される。

【0139】

例示として、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを得るために用いられる天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列は、配列番号2の1位～916位、配列番号4の1位～912位、配列番号6の1位～893位、配列番号8の1位～939位、配列番号10の1位～962位、配列番号12の1位～971位、配列番号14の1位～983位、配列番号16の1位～928位、配列番号18の1位～951位、配列番号20の1位～832位、配列番号22の1位～840位、配列番号24の1位～841位、配列番号26の1位～842位、配列番号28の1位～841位および配列番号30の1位～838位からなる群より選択されるアミノ酸配列（すなわち、対照アミノ酸配列）と同一、すなわち、100%同一であってもよく、あるいはこのアミノ酸配列は、対照アミノ

酸配列と比較してある一定の数までアミノ酸が変化していてもよい。このような変化は、少なくとも1個のアミノ酸の欠失、保存および非保存置換を含む置換、または挿入からなる群より選択され得る。この変化は対照アミノ酸配列のアミノ末端もしくはカルボキシル末端の位置で生じててもよく、またはこれら末端以外のどの位置で生じててもよい。アミノ酸残基の変化は、1残基ずつ点在していてもよく、数残基連続していてもよい。

【0140】

本明細書では配列の同一性は、GENETYX-WIN Ver. 4.0 (株式会社ゼネティックス) のマキシマムマッチングを用いて算出される。このプログラムは、解析対象となる配列データに対して、比較対照となる配列データとを置き換えや欠損を考慮しながら、配列間で一致するアミノ酸対が最大になるように並べ替え、その際、一致 (Matches)、不一致 (Mismatches)、ギャップ (Gaps) についてそれぞれ得点を与え合計を算出して最小となるアライメントを出力しその際の同一性を算出する (参考文献: Takashi, K., および Gotoh, O. 1984. Sequence Relationships among Various 4.5 S RNA Species J. Biochem. 92:1173-1177)。

【0141】

GENETYX-WIN Ver. 4.0 のマキシマムマッチングを用いて、馬鈴薯のタイプL (配列番号2) に対する、サツマイモのタイプL (配列番号4)、馬鈴薯の第2のタイプL (配列番号6)、ソラマメ (Fava bean) のタイプL (配列番号8)、シロイヌナズナのタイプL (配列番号10)、ホウレンソウのタイプL (配列番号12)、トウモロコシのタイプL (配列番号14)、イネのタイプL (配列番号16)、イネの第2のタイプL (配列番号18)、コムギのタイプH (配列番号20)、Citrus hybrid cultivar のタイプH (配列番号22)、イネのタイプH (配列番号24)、ソラマメのタイプH (配列番号26)、シロイヌナズナのタイプH (配列番号28) および馬鈴薯のタイプH (配列番号30) を馬鈴薯のタイプL (配列番号2) の同一性を算出した結果を表4に示した。ただし、マキシマムマッチングの解析は

、Matches=-1; Mismatches=1; Gaps=1; *N+=2の条件で行った。

【0142】

【表4】

対象配列	同一性
馬鈴薯のタイプL	100
馬鈴薯の第2のタイプL	70.3
シロイヌナズナのタイプL	72.1
ハウレンソウのタイプL	72.7
イネのタイプL	73.8
イネの第2のタイプL	67.7
トウモロコシのタイプL	70.2
サツマイモのタイプL	78.6
ソラマメのタイプL	72.5
馬鈴薯のタイプH	57.5
シロイヌナズナのタイプH	57.8
イネのタイプH	57.0
ソラマメのタイプH	58.6
Citrus hybrid cultivarのタイプH	57.5
コムギのタイプH	57.6

【0143】

配列表の配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27および配列番号29からなる群より選択される塩基配列からなる核酸分子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子に対して改変を行って得られる改変塩基配列を含む核酸分子は、本発明の範囲内にある。当業者は、所望の α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子を容易に選択することができる。

【0144】

本明細書中で使用する用語「ストリンジェントな条件」とは、特異的な配列にはハイブリダイズするが、非特異的な配列にはハイブリダイズしない条件をいう。ストリンジェントな条件の設定は、当業者に周知であり、例えば、Molecular Cloning (Sambrookら、前出)に記載される。具体的には、例えば、コロニーあるいはブランク由来のDNAを固定化したフィルター

を用いて、50%ホルムアミド、5×SSC (750mM NaCl、75mM クエン酸三ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム (pH7.6)、5×デンハルト溶液 (0.2% BSA、0.2% Ficoll 400 および 0.2% ポリビニルピロリドン)、10%硫酸デキストラン、および 20 μg/ml 変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中での 65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1~2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである) を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄するという条件を用いることにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。

【0145】

本発明の方法で用いられる改変核酸分子は、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子に対して保存的に改変された核酸分子であってもよい。「第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列を含む核酸分子に対して保存的に改変された核酸分子」とは、第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列がコードするアミノ酸配列と同一または本質的に同一のアミノ酸配列をコードする塩基配列を含む核酸分子をいう。「第一の α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列がコードするアミノ酸配列と本質的に同一のアミノ酸配列」とは、第一の α -グルカンホスホリラーゼと本質的に同じ酵素活性を有するアミノ酸配列をいう。遺伝コードの縮重のため、機能的に同一な多数の塩基配列が任意の所定のアミノ酸配列をコードする。例えば、コドン GCA、GCC、GCG および GCT はすべて、アミノ酸アラニンをコードする。したがって、GCA コドンによってアラニンが特定される全ての位置で、そのコドンは、コードされたアラニンを変更することなく、GCC、GCG または GCT に変更され得る。同様に、複数のコドンによってコードされ得るアミノ酸に関しては、コドンによってそのアミノ酸が特定される全ての位置で、そのコドンは、コードされた特定のアミノ酸を変更することなく、そのアミノ酸をコードする任意の別のコドンに変更され得る。このような塩基配列の変動は、保存的に改変された変異の1つの種である「サイレント変異」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての塩基配列はまた、その核酸の可能なすべての

サイレント改変を包含する。サイレント変異は、コードする核酸が変化しない「サイレント置換」と、そもそも核酸がアミノ酸をコードしない場合を包含する。ある核酸がアミノ酸をコードする場合、サイレント変異は、サイレント置換と同義である。本明細書において「サイレント置換」とは、塩基配列において、あるアミノ酸をコードする塩基配列を、同じアミノ酸をコードする別の塩基配列に置換することをいう。遺伝コード上の縮重という現象に基づき、あるアミノ酸をコードする塩基配列が複数ある場合（例えば、グリシンなど）、このようなサイレント置換が可能である。したがって、サイレント置換により生成した塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を有するポリペプチドは、もとのポリペプチドと同じアミノ酸配列を有する。したがって、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼにおいて、本発明の目的とする改変（配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置、135位アスパラギン（N135）に相当する位置および706位トレオニン（T706）に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有するように置換すること）に加えて、塩基配列レベルでは、サイレント置換を含ませることも可能である。当該分野において、核酸中の各コドン（通常メチオニンをコードする唯一のコドンであるATG、および通常トリプトファンをコードする唯一のコドンであるTGGを除く）が、機能的に同一な分子を産生するために改変され得ることが理解される。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列において暗黙に含まれる。好ましくは、そのような改変は、ポリペプチドの高次構造に多大な影響を与えるアミノ酸であるシステインの置換を回避するようになされ得る。

【0146】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列は、発現のために導入される生物におけるコドンの使用頻度にあわせて変更され得る。コドン使用頻度は、その生物において高度に発現される遺伝子での使用頻度を反映する。例えば、大腸菌において発現させることを意図する場合、公開されたコドン使用頻度表（例えば、Sharpら, Nucleic Acids Resea

rch 16 第17号, 8207頁(1988))に従って大腸菌での発現のために最適にすることができる。

【0147】

(2. 3 発現ベクターの作製)

上記のようにして改変された塩基配列を含む核酸分子を用いて、発現ベクターが作製される。特定の核酸配列を用いて発現ベクターを作製する方法は、当業者に周知である。

【0148】

本明細書において核酸分子について言及する場合、「ベクター」とは、目的の塩基配列を目的の細胞へと移入させることができる核酸分子をいう。そのようなベクターとしては、目的の細胞において自律複製が可能であるか、または目的の細胞の染色体中への組込みが可能で、かつ改変された塩基配列の転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。本明細書において、ベクターはプラスミドであり得る。

【0149】

本明細書において使用される「発現ベクター」とは、改変された塩基配列（すなわち、改変された α -グルカンホスホリラーゼをコードする塩基配列）を目的の細胞中で発現し得るベクターをいう。発現ベクターは、改変された塩基配列に加えて、その発現を調節するプロモーターのような種々の調節エレメント、および必要に応じて、目的の細胞中での複製および組換え体の選択に必要な因子（例えば、複製起点（ori）、および薬剤耐性遺伝子のような選択マーカー）を含む。発現ベクター中では、改変された塩基配列は、転写および翻訳されるように作動可能に連結されている。調節エレメントとしては、プロモーター、ターミネーターおよびエンハンサーが挙げられる。また、発現された酵素を細胞外へ分泌させることが意図される場合は、分泌シグナルペプチドをコードする塩基配列が、改変された塩基配列の上流に正しいリーディングフレームで結合される。特定の生物（例えば、細菌）に導入するために使用される発現ベクターのタイプ、その発現ベクター中で使用される調節エレメントおよび他の因子の種類が、目的の細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。

【0150】

本明細書において使用される「ターミネーター」は、タンパク質コード領域の下流に位置し、塩基配列が mRNA に転写される際の転写の終結、ポリ A 配列の付加に関与する配列である。ターミネーターは、mRNA の安定性に関与して遺伝子の発現量に影響を及ぼすことが知られている。

【0151】

本明細書において使用される「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、また転写頻度を直接的に調節する DNA 上の領域をいい、RNA ポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。プロモーターの領域は、通常、推定タンパク質コード領域の第 1 エキソンの上流約 2 k b p 以内の領域であることが多いので、DNA 解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子の上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子の下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳開始点から上流約 2 k b p 以内に存在する。

【0152】

本明細書において使用される「エンハンサー」は、目的遺伝子の発現効率を高めるために用いられ得る。そのようなエンハンサーは当該分野において周知である。エンハンサーは複数個用いられ得るが 1 個用いられてもよいし、用いなくともよい。

【0153】

本明細書において使用される「作動可能に連結された（る）」とは、所望の塩基配列が、発現（すなわち、作動）をもたらす転写翻訳調節配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

【0154】

改変した核酸配列を、上記調節エレメントに作動可能に連結するために、目的の α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子を加工すべき場合がある。例えば、プロモーターとコード領域との間が長すぎて転写効率の低下が予想される場合、またはリボゾーム結合部位と翻訳開始コドンとの間隔が適切でない場合などである。加工の手段としては、制限酵素による消化、B a l 3 1、E x o I I I などのエキソヌクレアーゼによる消化、あるいはM13などの一本鎖DNAまたはPCRを使用した部位特異的変異誘発の導入が挙げられる。

【0155】

(2. 4 耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの発現)

次いで、上記のようにして作製された発現ベクターを細胞に導入して耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼが発現される。

【0156】

本明細書において酵素の「発現」とは、その酵素をコードする塩基配列が、インビボまたはインビトロで転写および翻訳されて、コードされる酵素が生産されることをいう。

【0157】

発現ベクターを導入する細胞（宿主ともいう）としては、原核生物および真核生物が挙げられる。発現ベクターを導入する細胞は、 α -グルカンホスホリラーゼの発現の容易さ、培養の容易さ、増殖の速さ、安全性などの種々の条件を考慮して容易に選択され得る。例えば、 α -グルカンホスホリラーゼを高分子量のアミロースの合成に用いる場合、 α -グルカンホスホリラーゼは、夾雑物としてアミラーゼを含まないことが好ましいので、アミラーゼを産生しないかまたは低レベルでしか発現しない細胞を用いることが好ましい。このような細胞の例としては、細菌、真菌などの微生物が挙げられる。より好ましい細胞の例としては、中温菌（例えば、大腸菌、枯草菌）が挙げられる。本明細書において、「中温菌」とは、生育温度が通常の温度環境にある微生物のことであり、特に生育至適温度が20℃～40℃である微生物をいう。細胞は、微生物細胞であってもよいが、植物、動物などの細胞であってもよい。用いる細胞によっては、本発明の酵素は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。植物としては、例えば、双子葉

植物、イネ、コムギ、オオムギ、トウモロコシなどの単子葉植物が挙げられるがそれらに限定されない。イネなどの穀物は、貯蔵タンパク質を種子に蓄積する性質を持っており、貯蔵タンパク質系を用いて、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを種子に蓄積するように発現させることが可能である（特開2002-58492号明細書を参照のこと）。

【0158】

本発明の方法において、発現ベクターを細胞に導入する技術は、当該分野で公知の任意の技術であり得る。このような技術の例としては、例えば、形質転換、形質導入、トランスフェクションなどが挙げられる。そのような核酸分子の導入技術は、当該分野において周知であり、かつ、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. ら編（1988）、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY；Sambrook Jら（1987）Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。

【0159】

細胞として植物の細胞を用いる場合、形質転換体を組織または植物体へと再分化する方法は当該分野において周知である。そのような方法の例は、以下に記載される：Rogersら、Methods in Enzymology 118:627-640（1986）；Tabataら、Plant Cell Physiol., 28:73-82（1987）；Shaw, Plant Molecular Biology: A practical approach. IRL press（1988）；Shimamotoら、Nature 338:274（1989）；およびMaligaら、Methods in Plant Molecular Biology: A laboratory course. Cold Spring Harbor Laboratory Press（1995）。木本植物を形質転換する方法については、Mol

ecular Biology of Woody Plants (Vol. I, II) (ed. S. Mohan Jain, Subhash C. Minocha)、Kluwer Academic Publishers、(2000)に記載されている。また、木本植物を形質転換する方法は、例えば、Plant Cell Reports (1999) 19:106-110に詳細に記載されている。従って、当業者は、目的とするトランスジェニック植物に応じて上記周知方法を適宜使用して、形質転換体を再分化させることができる。このようにして得られたトランスジェニック植物には、目的の遺伝子が導入されており、そのような遺伝子の導入は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット分析のような公知の方法または他の周知慣用技術を用いて確認することができる。

【0160】

発現ベクターが導入されて耐熱化された α -グルカンホスホリラーゼを発現する能力を獲得した細胞（形質転換細胞ともいう）を培養することにより、耐熱化された α -グルカンホスホリラーゼを細胞に発現させることができる。形質転換細胞の培養条件は、使用する宿主細胞の種類、発現ベクター内の発現調節因子の種類などに応じて、適切に選択される。例えば、通常の振盪培養方法が用いられ得る。

【0161】

形質転換細胞の培養に用いる培地は、使用する細胞が増殖して目的の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを発現し得るものであれば特に限定されない。培地には、炭素源、窒素源の他、無機塩、例えば、リン酸、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} などの塩が必要に応じて、適宜混合して、または単独で用いられ得る。また、必要に応じて形質転換細胞の増殖、目的の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの発現に必要な各種無機物または有機物が添加され得る。

【0162】

形質転換細胞を培養する温度は、用いる形質転換細胞の増殖に適するように選択され得る。通常15℃～60℃である。形質転換株の培養は、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの発現のために十分な時間続行される。

【0163】

誘導性プロモーターを有する発現ベクターを使用する場合、誘導物質の添加、培養温度の変更、培地成分の調整などにより発現が制御され得る。例えば、ラクトース誘導性プロモーターを有する発現ベクターを使用する場合は、イソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド (IPTG) を添加することにより発現が誘導され得る。

【0164】

(2. 5 耐熱化α-グルカンホスホリラーゼの回収)

このようにして発現された耐熱化α-グルカンホスホリラーゼは、次いで回収され得る。例えば発現された耐熱化α-グルカンホスホリラーゼが形質転換細胞内に生産される場合、このようにして形質転換細胞を培養した後、培養物を遠心分離または濾過することによって細胞を回収する。回収した細胞を適当な緩衝液に懸濁した後、通常の手段（超音波、フレンチプレス、リゾチーム処理）を用いて破碎し、粗酵素液を得る。さらに、粗酵素液を遠心分離、クロマトグラフィー、膜分画、電気泳動、塩析などの通常の酵素精製手段を適宜組み合わせた方法で精製することによって、比活性が向上した粗酵素液または精製酵素が得られる。α-アミラーゼなどのグルカン加水分解する酵素が含まれていなければ、粗酵素をそのまま、例えば、高分子量のグルカンの製造に用い得る。

【0165】

上述のようにして耐熱化α-グルカンホスホリラーゼを生産することにより、天然のα-グルカンホスホリラーゼの耐熱性を大幅に向上させることが可能となる。また、発現させた耐熱化α-グルカンホスホリラーゼは、その耐熱性を利用して簡便に精製され得る。簡単に述べると、耐熱化α-グルカンホスホリラーゼを含む細胞抽出液を60℃程度で加熱処理することにより、夾雑酵素が不溶化する。この不溶化物を遠心分離などで除去して透析処理を行うことにより、精製された耐熱化α-グルカンホスホリラーゼが得られる。

【0166】

(3. 耐熱化α-グルカンホスホリラーゼ)

上記のような方法によって得られた本発明の耐熱化α-グルカンホスホリラー

ぜは、天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列に対して1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する。

【0167】

1つの実施形態では、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、植物由来の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列に対して1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する。

【0168】

本発明の酵素はまた、植物由来の天然の α -グルカンホスホリラーゼを改変して得られる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼであって、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列に対して1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を含み、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する。

【0169】

本発明の酵素は、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも2つの位置において天然の α -グルカンホスホリラーゼとは異なるアミノ

酸残基を有することが好ましい。本発明の酵素は、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置の全ての位置において、天然の α -グルカンホスホリラーゼとは異なるアミノ酸残基を有することが最も好ましい。

【0170】

天然の α -グルカンホスホリラーゼの上記の3つの位置は、 α -グルカンホスホリラーゼの立体構造の中で、周囲のアミノ酸と相互に作用し、酵素を不安定にする立体的部分構造を形成していると考えられる。これらの位置の残基を、別のアミノ酸残基に変更することによって、酵素が安定化され、耐熱性が向上する。また、これらの位置の残基は周囲のアミノ酸残基と立体構造的に相互作用しているので、そのアミノ酸残基を置換することに重要な意義がある。例えば、馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼの場合は、F39の位置のFをそれ以外に置換することに重要な意義がある。また、例えば、馬鈴薯由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼにおいては、F39に相当する位置のアミノ酸はYであるが、Yを他のアミノ酸に置換することに重要な意義がある。

【0171】

本発明の酵素においては、F39に相当する位置におけるアミノ酸残基は、天然の α -グルカンホスホリラーゼに見出されるアミノ酸残基以外のアミノ酸であり得る。F39に相当する位置におけるアミノ酸残基は、脂肪族アミノ酸または複素環式アミノ酸であることが好ましく、脂肪族アミノ酸であることがより好ましく、分枝アミノ酸（すなわち、バリン、ロイシンまたはイソロイシン）であることが特に好ましく、ロイシンであることが最も好ましい。

【0172】

本発明の酵素においては、N135に相当する位置におけるアミノ酸残基は、天然の α -グルカンホスホリラーゼに見出されるアミノ酸残基以外のアミノ酸であり得る。N135に相当する位置におけるアミノ酸残基は、脂肪族アミノ酸または複素環式アミノ酸であることが好ましく、脂肪族アミノ酸であることがより好ましく、ヒドロキシアミノ酸（すなわち、セリンまたはトレオニン）であるこ

とが特に好ましく、セリンであることが最も好ましい。

【0173】

本発明の酵素においては、T706に相当する位置におけるアミノ酸残基は、天然の α -グルカンホスホリラーゼに見出されるアミノ酸残基以外のアミノ酸であり得る。T706に相当する位置におけるアミノ酸残基は、脂肪族アミノ酸または複素環式アミノ酸であることが好ましく、脂肪族アミノ酸であることがより好ましく、分枝アミノ酸（すなわち、バリン、ロイシンまたはイソロイシン）であることが特に好ましく、イソロイシンであることが最も好ましい。

【0174】

本発明の方法において、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを作製するために、本発明の目的の改変（配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン（F39）に相当する位置、135位アスパラギン（N135）に相当する位置および706位トレオニン（T706）に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有するように置換すること）に加えて、アミノ酸の置換、付加、欠失または修飾を行うことができる。アミノ酸の置換とは、1つのアミノ酸を別の1つのアミノ酸に置き換えることをいう。アミノ酸の付加とは、もとのアミノ酸配列中のどこかの位置に、1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を挿入することをいう。アミノ酸の欠失とは、もとのアミノ酸配列から1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を除去することをいう。アミノ酸修飾の例としては、アミド化、カルボキシル化、硫酸化、ハロゲン化、アルキル化、グリコシル化、リン酸化、水酸化、アシル化（例えば、アセチル化）などが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、ペプチド合成方法によって合成されてもよく、このような場合、置換または付加されるアミノ酸は、天然のアミノ酸であってもよく、非天然のアミノ酸またはアミノ酸アナログであってもよい。天然のアミノ酸が好ましい。

【0175】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、 α -グルカンホスホリラーゼとしての酵素活性を有する、酵素アナログであってもよい。本明細書において使用される用語「酵素アナログ」とは、天然の酵素とは異なる化合物であるが、天然の酵素と少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、酵素アナログには、もとの天然の酵素に対して、1つ以上のアミノ酸アナログが付加または置換されているものが含まれる。酵素アナログは、その機能（例えば、 α -ホスホリラーゼ活性または耐熱性）が、もとの天然の酵素の機能と実質的に同様またはそれよりも良好であるように、このような付加または置換がされている。そのような酵素アナログは、当該分野において周知の技術を用いて作製することができる。したがって、酵素アナログは、アミノ酸アナログを含むポリマーであり得る。本明細書において「酵素」は、特に言及しない限り、この酵素アナログを包含する。

【0176】

本明細書において、「アミノ酸」は、天然のアミノ酸であっても、非天然アミノ酸であっても、誘導体アミノ酸であっても、アミノ酸アナログであってもよい。天然のアミノ酸が好ましい。

【0177】

用語「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸のL-異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、 γ -カルボキシグルタミン酸、アルギニン、オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸はL体であるが、D体のアミノ酸を用いた形態もまた本発明の範囲内にある。

【0178】

用語「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、ノルロイシン、パラ-ニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラ-フルオロフェニルアラニン、3-アミノ-2-ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンのD体またはL体およびD

ーフェニルアラニンが挙げられる。

【0179】

「誘導体アミノ酸」とは、アミノ酸を誘導体化することによって得られるアミノ酸をいう。

【0180】

「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および／または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとしては、例えば、エチオニン、カナバニン、2-メチルグルタミンなどが挙げられる。

【0181】

アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に受け入れられた1文字コードにより言及され得る。

【0182】

目的の改変に加えて、天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列に対して1もしくは数個またはそれを超える複数のアミノ酸の置換、付加または欠失による改変を含む耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、本発明の範囲内にある。そのような1もしくは数個またはそれを超えるアミノ酸の置換、付加または欠失を含む耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997)、Nucleic Acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 488 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81, 566

2 (1984)、Science, 224, 1431 (1984)、PCT WO 85/00817 (1985)、Nature, 316, 601 (1985)等に記載の方法に準じて調製することができる。

【0183】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、当該分野において周知の方法を利用して製造され得る。例えば、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸の欠失、置換もしくは付加は、周知技術である部位特異的変異誘発法により実施することができる。部位特異的変異誘発の手法は、当該分野では周知である。例えば、Nucl. Acid Research, Vol. 10, pp. 6487-6500 (1982)を参照のこと。

【0184】

本明細書において、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼについて用いられるとき「1もしくは数個またはそれを超える複数のアミノ酸の置換、付加または欠失」または「少なくとも1つのアミノ酸の置換、付加または欠失」とは、 α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性が喪失しない、好ましくはその酵素活性が基準となるもの（例えば、天然の α -グルカンホスホリラーゼ）と同等以上となるような程度の数の置換、付加または欠失をいう。当業者は、所望の性質を有する耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを容易に選択することができる。あるいは、目的とする耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを直接化学合成してもよい。そのような化学合成の方法は、当該分野において周知である。

【0185】

このようにして作製された本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、天然の α -グルカンホスホリラーゼ（好ましくは、馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼ）のアミノ酸配列に対して、好ましくは約40%、より好ましくは約45%、より好ましくは約50%、より好ましくは約55%、より好ましくは約60%、より好ましくは約65%、より好ましくは約70%、より好ましくは約75%、より好ましくは約80%、より好ましくは約85%、より好ましくは約90%、より好ましくは約95%、そして最も好ましくは約99%の同一性を有する。上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮さ

れ得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている (K y t e, J および D o o l i t t l e, R. F. J. Mol. Biol. 157 (1) : 105-132, 1982)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子 (例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など) との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは: イソロイシン (+4.5); バリン (+4.2); ロイシン (+3.8); フェニルアラニン (+2.8); システイン/シスチン (+2.5); メチオニン (+1.9); アラニン (+1.8); グリシン (-0.4); トレオニン (-0.7); セリン (-0.8); トリプトファン (-0.9); チロシン (-1.3); プロリン (-1.6); ヒスチジン (-3.2); グルタミン酸 (-3.5); グルタミン (-3.5); アスパラギン酸 (-3.5); アスパラギン (-3.5); リジン (-3.9); およびアルギニン (-4.5)) である。

【0186】

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質 (例えば、酵素活性において等価なタンパク質) を生じさせ得ることは、当該分野で周知である。このようなアミノ酸置換において、疎水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0.5以内であることがさらに好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。米国特許第4,554,101号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている: アルギニン (+3.0); リジン (+3.0); アスパラギン酸 (+3.0±1); グルタミン酸 (+3.0±1); セリン (+0.3); アスパラギン (+0.2); グルタミン (+0.2); グリシン (0); トレオニン (-0.4); プロリン (-0.5±1); アラニン (-0.5); ヒスチジン (-0.5); システイン (-1.0); メチオニン (-1.3); バリン (-1.5); ロイシン (-1.8); イソロイシン (-1.8); チロシン (-2.3); フェニルアラニン (-2.5)

); およびトリプトファン (-3.4)。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が ± 2 以内であることが好ましく、 ± 1 以内であることがより好ましく、および ± 0.5 以内であることがさらに好ましい。

【0187】

本発明において、「保存的置換」とは、アミノ酸置換において、元のアミノ酸と置換されるアミノ酸との親水性指数または／および疎水性指数が上記のように類似している置換をいう。保存的置換の例は、当業者に周知であり、例えば、次の各グループ内での置換が挙げられるがこれらに限定されない：アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびトレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシン、およびイソロイシン。

【0188】

(3.2 耐熱性の評価方法)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の20%以上であることを1つの特徴とする。本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20 mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7) 中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性は、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性の約10%以上であることが好ましく、約20%以上であることがより好ましく、約30%以上であることがより好ましく、約40%以上であることがより好ましく、約50%以上であることがより好ましく、約55%以上であることが好ましく、約60%以上であることがより好ましく、約65%以上であることがさらに好ましく、約70%以上であることがいっそう好ましく、約80%以上であることが特に好ましく、約90%以上であることが最も好ましい。

【0189】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを20 mMクエン酸緩衝液 (pH

6. 7) 中で 65℃ で 1 分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性が、該加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの 37℃ における酵素活性の約 40% 以上であることが好ましく、約 45% 以上であることがより好ましく、約 50% 以上であることがさらに好ましく、約 55% 以上であることがいっそう好ましく、約 60% 以上であることが特に好ましく、約 65% 以上であることが最も好ましい。

【0190】

(3. 2. 1 α -グルカンホスホリラーゼ (GP) 活性測定法)

この GP 酵素活性測定法は、G-1-P から生じた遊離の無機リン酸 (Pi) を定量する。

【0191】

① 200 μ l の反応液 (100 mM 酢酸緩衝液 (pH 6.0) 中、12.5 mM G-1-P、1% デキストリンおよび酵素液を含む) を 37℃ に 15 分間インキュベートする。

【0192】

② 800 μ l のモリブデン試薬 (15 mM モリブデン酸アンモニウム、100 mM 酢酸亜鉛) を加え、攪拌し反応を停止する。

【0193】

③ 200 μ l の 568 mM のアスコルビン酸 (pH 5.8) を加え、混合する。

【0194】

④ 37℃ に 15 分間インキュベートした後、分光光度計を用いて 850 nm の吸光度を測定する。

【0195】

⑤ 濃度既知の無機リン酸を用いて同様に吸光度を測定し、標準曲線を作成する。

【0196】

⑥ この標準曲線に試料で得られた吸光度を当てはめ、試料中の無機リン酸を求める。無機リン酸は、リン酸イオンとして定量される。グルコース-1-リン酸

の量は定量されない。本明細書において、1単位の α -グルカンホスホリラーゼ活性とは、この測定法で測定して、1分間に $1\mu\text{mol}$ の無機リン酸(Pi)を生成する活性を1単位(U)とする。

【0197】

(3. 2. 2 耐熱性の測定法)

耐熱性は、以下の手順に従って測定される。

【0198】

①0.2 U/mlの酵素液(20 mMクエン酸緩衝液(pH 6.7)中)を5℃、60℃または65℃で0~60分間インキュベートする。

【0199】

②各時間で取り出した酵素液を氷中に保持する。

【0200】

③②の酵素液を10倍希釈し、GP活性測定法に従って酵素活性を測定する。20 mMクエン酸緩衝液(pH 6.7)中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性A後の割合は、加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの37℃における酵素活性A前から、(A後)÷(A前)×100(%)によって算出される。加熱前の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性A前に対する加熱後の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性A後の割合を、残存活性ともいう。

【0201】

(3. 3 アミロースを合成する能力の評価方法)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、重量平均分子量が、好ましくは約60 kDa以上、より好ましくは約100 kDa以上、さらに好ましくは約150 kDa以上、さらに好ましくは約200 kDa以上、さらに好ましくは約250 kDa以上、さらに好ましくは約300 kDa以上、さらに好ましくは約350 kDa以上、さらに好ましくは約400 kDa以上、さらに好ましくは約450 kDa以上、さらに好ましくは約500 kDa以上、さらに好ましくは約550 kDa以上、さらに好ましくは約600 kDa以上、最も好ましくは約650 kDa以上のグルカン(特にアミロース)を合成する能力を有することを1

つの特徴とする。重量平均分子量が約 5 kDa ～ 約 599 kDa のグルカンは水に溶けにくいのにに対し、重量平均分子量が約 600 kDa 以上のグルカンは特に、水溶性であるという利点を示す。本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼによって合成されるグルカンの重量平均分子量には、特に上限はないが、例えば、1000 kDa まで、1万 kDa まで、10万 kDa までのグルカンが良好な生産性で合成され得る。

【0202】

「重量平均分子量 60 kDa 以上のアミロースを合成する能力を有する」とは、40 μ M マルトテトラオース、250 mM グルコース-1-リン酸、200 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5)、4 U/ml 反応液の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ (精製酵素) を用いて、37℃ にて 18 時間インキュベートすることによってアミロースを合成したときに合成されるアミロースの重量平均分子量が 60 kDa 以上であることをいう。他の重量平均分子量のアミロースを合成する能力についても同様に定義され、例えば、「重量平均分子量 600 kDa 以上のアミロースを合成する能力を有する」とは、この条件で合成されるアミロースの重量平均分子量が 600 kDa 以上であることを有する。

【0203】

アミロースの重量平均分子量は、例えば、以下の方法で測定され得る。

【0204】

まず、合成したアミロースを 1 N 水酸化ナトリウムで完全に溶解し、適当量の塩酸で中和した後、アミロース約 30 ～ 300 μ g 分を、示差屈折計と多角度光散乱検出器とを併用したゲル濾過クロマトグラフィーに供することにより平均分子量を求める。

【0205】

詳しくは、カラムとして Shodex SB806M-HQ (昭和電工製) を用い、検出器としては多角度光散乱検出器 (DAWN-DSP、Wyatt Technology 社製) および示差屈折計 (Shodex RI-71、昭和電工製) をこの順序で連結して用いる。カラムを 40℃ に保ち、溶離液としては 0.1 M 硝酸ナトリウム溶液を流速 1 mL/分 で用いる。得られるシグナルを、

データ解析ソフトウェア（商品名ASTRA、Wyatt Technology社製）を用いて収集し、同ソフトを用いて解析することにより、重量平均分子量を求める。

【0206】

（4．本発明の酵素を用いたグルカンの製造法）

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、グルカンの合成方法において有利に用いられ得る。本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いるグルカンの合成方法は、当該分野で公知の任意のグルカンの合成方法であり得るが、スクロースとプライマーにスクロースホスホリラーゼと α -グルカンホスホリラーゼを同時に作用させる方法（SP-GP法ともいう）において用いることが好ましい。SP-GP法は、安価な基質を用いて直鎖状グルカンを製造できるという利点を有する。

【0207】

本発明のグルカンの合成方法は、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する。

【0208】

本発明のグルカンの合成方法は、もちろん、SP-GP法によらない方法であってもよい。このような方法の場合、本発明のグルカンの合成方法は、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、プライマーと、グルコース-1-リン酸とを含む反応溶液を反応させて、グルカンを生産する工程を包含する。

【0209】

本明細書中では「グルカン」とは、D-グルコースを構成単位とする、糖であって、 α -1, 4-グルコシド結合によって連結された糖単位を少なくとも2糖単位以上有する糖をいう。グルカンは、直鎖状、分岐状または環状の分子であり得る。直鎖状グルカンと α -1, 4-グルカンとは同義語である。直鎖状グルカンでは、 α -1, 4-グルコシド結合によってのみ糖単位の間が連結されている。 α -1, 6-グルコシド結合を1つ以上含むグルカンは、分岐状グルカンであ

る。グルカンは、好ましくは、直鎖状の部分がある程度含む。分岐のない直鎖状グルカンがより好ましい。

【0210】

グルカンは、場合によっては、分岐の数（すなわち、 $\alpha-1$ ，6-グルコシド結合の数）が少ないことが好ましい。このような場合、分岐の数は、代表的には0～10000個、好ましくは0～1000個、より好ましくは0～500個、さらに好ましくは0～100個、さらに好ましくは0～50個、さらに好ましくは0～25個、さらに好ましくは0個である。

【0211】

本発明のグルカンでは、 $\alpha-1$ ，6-グルコシド結合を1としたときの $\alpha-1$ ，6-グルコシド結合の数に対する $\alpha-1$ ，4-グルコシド結合の数の比は、好ましくは1～10000であり、より好ましくは2～5000であり、さらに好ましくは5～1000であり、さらに好ましくは10～500である。

【0212】

$\alpha-1$ ，6-グルコシド結合は、グルカン中に無秩序に分布していてもよいし、均質に分布していてもよい。グルカン中に糖単位で5個以上の直鎖状部分ができる程度の分布であることが好ましい。

【0213】

グルカンは、D-グルコースのみから構成されていてもよいし、グルカンの性質を損なわない程度に修飾された誘導体であってもよい。修飾されていないことが好ましい。

【0214】

グルカンは、代表的には約 8×10^3 以上、好ましくは約 1×10^4 以上、より好ましくは約 5×10^4 以上、さらに好ましくは約 1×10^5 以上、さらに好ましくは約 6×10^5 以上の分子量を有する。グルカンは、代表的には約 1×10^8 以下、好ましくは約 3×10^7 以下、より好ましくは約 1×10^7 以下、さらに好ましくは約 5×10^6 以下、さらに好ましくは約 1×10^6 以下の分子量を有する。本発明ではグルカンの分子量とは、特に制限がない限り重量平均分子量をいう。

【0215】

当業者は、本発明の製造方法で用いられる基質の量、酵素の量、反応時間などを適宜設定することによって所望の分子量のグルカンが得られることを容易に理解する。

【0216】

生産効率の良いSP-GP法は、国際公開第WO02/097107号パンフレットに記載される。

【0217】

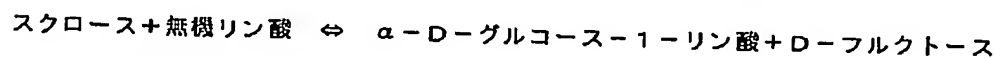
本発明の製造法では、例えば、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸と、緩衝剤と、それを溶かしている溶媒とを主な材料として用いる。これらの材料は通常、反応開始時に全て添加されるが、反応の途中でこれらのうちの任意の材料を追加して添加してもよい。本発明の製造方法では、必要に応じて、枝切り酵素、ブランチングエンザイム、4- α -グルカノトランスフェラーゼおよびグリコーゲンデブランチングエンザイムからなる群より選択される酵素を用いることができる。枝切り酵素、ブランチングエンザイム、4- α -グルカノトランスフェラーゼおよびグリコーゲンデブランチングエンザイムからなる群より選択される酵素は、目的とするグルカンの構造に応じて、本発明の製造方法の最初から反応溶液中に添加してもよく、途中から反応溶液中に添加してもよい。

【0218】

本明細書中では、「スクロースホスホリラーゼ」とは、スクロースの α -グリコシル基をリン酸基に転移して加リン酸分解を行う任意の酵素をいう。スクロースホスホリラーゼによって触媒される反応は、次式により示される：

【0219】

【化1】



【0220】

スクロースホスホリラーゼは、自然界では種々の生物に含まれる。スクロースホスホリラーゼを産生する生物の例としては、*Streptococcus*属に

属する細菌（例えば、*Streptococcus thermophilus*、*Streptococcus mutans*、*Streptococcus pneumoniae*、および*Streptococcus mitis*）、*Leuconostoc mesenteroides*、*Pseudomonas* sp.、*Clostridium* sp.、*Pullularia pullulans*、*Acetobacter xylinum*、*Agrobacterium* sp.、*Synechococcus* sp.、*E. coli*、*Listeria monocytogenes*、*Bifidobacterium adolescentis*、*Aspergillus niger*、*Monilia sitophila*、*Sclerotinea escerotiorum*、および*Chlamydomonas* sp. が挙げられるがこれらに限定されない。

【0221】

スクロースホスホリラーゼは、スクロースホスホリラーゼを産生する任意の生物由来であり得る。スクロースホスホリラーゼは、ある程度の耐熱性を有することが好ましい。スクロースホスホリラーゼは、単独で存在する場合の耐熱性が高ければ高いほど好ましい。例えば、スクロースホスホリラーゼを4%のスクロース存在下で55℃にて30分間加熱した場合に加熱前のスクロースホスホリラーゼの活性の20%以上の活性を保持するものであることが好ましい。スクロースホスホリラーゼは、好ましくは*Streptococcus mutans*、*Streptococcus pneumoniae*、*Leuconostoc mesenteroides*、*Oenococcus oeni*、*Bifidobacterium longum*、*Agrobacterium vitis*、*Pseudomonas saccharophila*、*Escherichia coli*および*Listeria innocua*からなる群より選択される細菌由来であり得、より好ましくは*Streptococcus mutans*、*Streptococcus pneumoniae*、*Leuconostoc mesenteroides*および*Oenococcus oeni*からなる群より選択される細菌由来であり得、そしてさらに好ましくは*Strep*

tococcus mutans または *Streptococcus pneumoniae* に由来し得る。

【0222】

スクロースは、 $C_{12}H_{22}O_{11}$ で示される、分子量約 342 の二糖である。スクロースは、光合成能を有するあらゆる植物中に存在する。スクロースは、植物から単離されてもよいし、化学的に合成されてもよい。コストの面からみて、スクロースを植物から単離することが好ましい。スクロースを多量に含む植物の例としては、サトウキビ、サトウダイコンなどが挙げられる。サトウキビは、汁液中に約 20% のスクロースを含む。サトウダイコンは、汁液中に約 10~15% のスクロースを含む。スクロースは、スクロースを含む植物の汁液から精製糖に至るいずれの精製段階のものとして提供されてもよい。

【0223】

本発明の製造法に用いられる耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼおよびスクロースホスホリラーゼはそれぞれ、精製酵素または粗酵素を問わず、固定化されたものでも反応に使用し得、反応の形式は、バッチ式でも連続式でもよい。固定化の方法としては、担体結合法、（例えば、共有結合法、イオン結合法、あるいは物理的吸着法）、架橋法あるいは包括法（格子型あるいはマイクロカプセル型）が使用され得る。

【0224】

プライマーの例としては、マルトオリゴ糖、アミロース、アミロペクチン、グリコーゲン、デキストリン、プルラン、カップリングシュガー、澱粉およびこれらの誘導体が挙げられる。

【0225】

本明細書中において、無機リン酸とは、SP の反応においてリン酸基質を供与し得る物質をいう。ここでリン酸基質とは、グルコース-1-リン酸のリン酸部分 (moiety) の原料となる物質をいう。スクロースホスホリラーゼによって触媒されるスクロース加リン酸分解において、無機リン酸はリン酸イオンの形態で基質として作用していると考えられる。当該分野ではこの基質を慣習的に無機リン酸というので、本明細書中でも、この基質を無機リン酸という。無機リン

酸には、リン酸およびリン酸の無機塩が含まれる。通常、無機リン酸は、アルカリ金属イオンなどの陽イオンを含む水中で使用される。この場合、リン酸とリン酸塩とリン酸イオンとは平衡状態になるので、リン酸とリン酸塩とは区別をしにくい。従って、便宜上、リン酸とリン酸塩とを合わせて無機リン酸という。本発明において、無機リン酸は好ましくは、リン酸の任意の金属塩であり、より好ましくはリン酸のアルカリ金属塩である。無機リン酸の好ましい具体例としては、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三カリウム、リン酸 (H_3PO_4)、リン酸二水素アンモニウム、リン酸水素二アンモニウムなどが挙げられる。

【0226】

無機リン酸は、反応開始時の SP-GP 反応系において、1 種類のみ含有されてもよく、複数種類含有されてもよい。

【0227】

無機リン酸は、例えば、ポリリン酸（例えば、ピロリン酸、三リン酸および四リン酸）のようなリン酸縮合体またはその塩を、物理的、化学的または酵素反応などによって分解したものを反応溶液に添加することによって提供され得る。

【0228】

本明細書において、グルコース-1-リン酸とは、グルコース-1-リン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$) およびその塩をいう。グルコース-1-リン酸は好ましくは、狭義のグルコース-1-リン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$) の任意の金属塩であり、より好ましくはグルコース-1-リン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$) の任意のアルカリ金属塩である。グルコース-1-リン酸の好ましい具体例としては、グルコース-1-リン酸二ナトリウム、グルコース-1-リン酸二カリウム、グルコース-1-リン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$)、などが挙げられる。本明細書において、括弧書きで化学式を書いていないグルコース-1-リン酸は、広義のグルコース-1-リン酸、すなわち狭義のグルコース-1-リン酸 ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$) およびその塩を示す。

【0229】

グルコース-1-リン酸は反応開始時の SP-GP 反応系において、1 種類の

み含有されてもよく、複数種類含有されていてもよい。

【0230】

本発明のグルカン製造法において、 α -1, 6-グルコシド結合を含有する出発材料を用いる場合などの、生成物に分岐が生じる場合には、必要に応じて、枝切り酵素を用いることができる。

【0231】

本発明で用いられ得る枝切り酵素は、 α -1, 6-グルコシド結合を切断し得る酵素である。枝切り酵素は、アミロペクチンおよびグリコーゲンにともによく作用するイソアミラーゼ (EC 3. 2. 1. 68) と、アミロペクチン、グリコーゲンおよびプルランに作用する α -デキストリンエンドー1, 6- α -グルコシダーゼ (プルラナーゼともいう) (EC 3. 2. 1. 41) との2つに分類される。

【0232】

枝切り酵素は、微生物、細菌、および植物に存在する。枝切り酵素を産生する微生物の例としては、*Saccharomyces cerevisiae*、*Chlamydomonas* sp. が挙げられる。枝切り酵素を産生する細菌の例としては、*Bacillus brevis*、*Bacillus acidopullulyticus*、*Bacillus macerans*、*Bacillus stearothermophilus*、*Bacillus circulans*、*Thermus aquaticus*、*Klebsiella pneumoniae*、*Thermoactinomyces thalophilus*、*Thermoanaerobacter ethanolicus*、*Pseudomonas amyloclavata*などが挙げられる。枝切り酵素を産生する植物の例としては、ジャガイモ、サツマイモ、トウモロコシ、イネ、コムギ、オオムギ、オートムギ、サトウダイコンなどが挙げられる。枝切り酵素を産生する生物はこれらに限定されない。

【0233】

本発明の方法において、生成物に分岐を生じさせることが所望される場合には、必要に応じて、ブランチングエンザイムを用いることができる。

【0234】

本発明で用いられ得るブランチングエンザイムは、 $\alpha-1, 4$ -グルカン鎖の一部をこの $\alpha-1, 4$ -グルカン鎖のうちのあるグルコース残基の6位に転移して分枝を作り得る酵素である。ブランチングエンザイムは、 $1, 4-\alpha$ -グルカン分枝酵素、枝づくり酵素またはQ酵素とも呼ばれる。

【0235】

ブランチングエンザイムは、微生物、動物、および植物に存在する。ブランチングエンザイムを産生する微生物の例としては、*Bacillus stearothermophilus*、*Bacillus subtilis*、*Bacillus caldolyticus*、*Bacillus licheniformis*、*Bacillus amyloliquefaciens*、*Bacillus coagulans*、*Bacillus caldovelox*、*Bacillus thermocatenuatus*、*Bacillus smithii*、*Bacillus megaterium*、*Bacillus brevis*、*Alkalophillic Bacillus sp.*、*Streptomyces coelicolor*、*Aquifex aeolicus*、*Synechosystis sp.*、*E. coli*、*Agrobacterium tumefaciens*、*Thermus aquaticus*、*Rhodothermus obamensis*、*Neurospora crassa*、酵母などが挙げられる。ブランチングエンザイムを産生する動物の例としてはヒト、ウサギ、ラット、ブタなどの哺乳類が挙げられる。ブランチングエンザイムを産生する植物の例としては、藻類、ジャガイモ、サツマイモ、ヤマイモ、キャッサバなどの芋類、ホウレンソウなどの野菜類、トウモロコシ、イネ、コムギ、オオムギ、ライムギ、アワなどの穀類、えんどう豆、大豆、小豆、うずら豆などの豆類などが挙げられる。ブランチングエンザイムを産生する生物はこれらに限定されない。

【0236】

本発明の方法において、生成物に環状構造を生じさせる場合には、必要に応じて、 $4-\alpha$ -グルカノトランスフェラーゼを用いることができる。

【0237】

本発明で用いられ得る 4- α -グルカノトランスフェラーゼは、デイスプロボーションーティングエンザイム、D-酵素、アミロマルターゼ、不均化酵素などとも呼ばれ、マルトオリゴ糖の糖転移反応（不均一化反応）を触媒し得る酵素である。4- α -グルカノトランスフェラーゼは、供与体分子の非還元末端からグルコシル基あるいは、マルトシルもしくはマルトオリゴシルユニットを受容体分子の非還元末端に転移する酵素である。従って、酵素反応は、最初に与えられたマルトオリゴ糖の重合度の不均一化をもたらす。供与体分子と受容体分子とが同一の場合は、分子内転移が生じ、その結果、環状構造をもつ生成物が得られる。

【0238】

4- α -グルカノトランスフェラーゼは、微生物および植物に存在する。4- α -グルカノトランスフェラーゼを産生する微生物の例としては、*Aquifex aeolicus*、*Streptococcus pneumoniae*、*Clostridium butylicum*、*Deinococcus radiodurans*、*Haemophilus influenzae*、*Mycobacterium tuberculosis*、*Thermococcus litralis*、*Thermotoga maritima*、*Thermotoga neapolitana*、*Chlamydia psittaci*、*Pyrococcus* sp.、*Dictyoglomus thermophilum*、*Borrelia burgdorferi*、*Synechosystis* sp.、*E. coli*、*Thermus aquaticus*などが挙げられる。4- α -グルカノトランスフェラーゼを産生する植物の例としては、ジャガイモ、サツマイモ、ヤマイモ、キャッサバなどの芋類、トウモロコシ、イネ、コムギ、などの穀類、えんどう豆、大豆、などの豆類などが挙げられる。4- α -グルカノトランスフェラーゼを産生する生物はこれらに限定されない。

【0239】

本発明の方法において、生成物に環状構造を生じさせる場合には、必要に応じて、グリコーゲンデブランチングエンザイムを用いることができる。

【0240】

本発明で用いられ得るグリコーゲンデブランチングエンザイムは、 α -1, 6-グルコシダーゼ活性と、4- α -グルカノトランスフェラーゼ活性との2種類の活性をもつ酵素である。グリコーゲンデブランチングエンザイムが持つ、4- α -グルカノトランスフェラーゼ活性により、環状構造を持つ生成物が得られる。

【0241】

グリコーゲンデブランチングエンザイムは、微生物および動物に存在する。グリコーゲンデブランチングエンザイムを産生する微生物の例としては、酵母などが挙げられる。グリコーゲンデブランチングエンザイムを産生する動物の例としては、ヒト、ウサギ、ラット、ブタなどの哺乳類が挙げられる。グリコーゲンデブランチングエンザイムを産生する生物はこれらに限定されない。

【0242】

本発明の製造法に用いる溶媒は、スクロースホスホリラーゼおよび α -グルカンホスホリラーゼの酵素活性を損なわない溶媒であれば任意の溶媒であり得る。

【0243】

なお、グルカンを生成する反応が進行し得る限り、溶媒が本発明の製造法に用いる材料を完全に溶解する必要はない。例えば、酵素が固体の担体上に担持されている場合には、酵素が溶媒中に溶解する必要はない。さらに、スクロースなどの反応材料も全てが溶解している必要はなく、反応が進行し得る程度の材料の一部が溶解していればよい。

【0244】

代表的な溶媒は、水である。溶媒は、上記スクロースホスホリラーゼまたは α -グルカンホスホリラーゼを調製する際にスクロースホスホリラーゼまたは α -グルカンホスホリラーゼに付随して得られる細胞破碎液のうちの水分であってもよい。

【0245】

α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とを含む溶液中には、スクロースホスホリラーゼとスクロースとの間の相互作用および α -グルカン

ホスホリラーゼとプライマーとの間の相互作用を妨害しない限り、任意の他の物質を含み得る。このような物質の例としては、緩衝剤、 α -グルカンホスホリラーゼを産生する微生物（例えば、細菌、真菌など）の成分、スクロースホスホリラーゼを産生する微生物（例えば、細菌、真菌など）の成分、塩類、培地成分などが挙げられる。

【0246】

これらの材料の使用量は、公知であり、当業者によって適切に設定され得る。

【0247】

本発明の製造法においては、まず、反応溶液を調製する。反応溶液は、例えば、適切な溶媒に、 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、固体状のスクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とを添加することにより調製され得る。あるいは、反応溶液は、 α -グルカンホスホリラーゼ、スクロースホスホリラーゼ、スクロース、プライマー、または無機リン酸もしくはグルコース-1-リン酸をそれぞれ含む溶液を混合することによって調製してもよい。あるいは、反応溶液は、 α -グルカンホスホリラーゼと、スクロースホスホリラーゼと、スクロースと、プライマーと、無機リン酸またはグルコース-1-リン酸とのうちのいくつかの成分を含む溶液に固体状の他の成分を混合することによって調製してもよい。この反応溶液には、酵素反応を阻害しない限り、必要に応じて、pHを調整する目的で任意の緩衝剤を加えてもよい。この反応溶液には、必要に応じて枝切り酵素、ブランチングエンザイム、4- α -グルカノトランスフェラーゼおよびグリコーゲンデブランチングエンザイムからなる群より選択される酵素を添加してもよい。

【0248】

次いで、反応溶液を、当該分野で公知の方法によって必要に応じて加熱することにより、反応させる。反応温度は、本発明の効果が得られる限り、任意の温度であり得る。反応開始時の反応溶液中のスクロース濃度が約5～約100%である場合には、反応温度は代表的には、約30℃～約75℃の温度であり得る。この反応工程における溶液の温度は、所定の反応時間後に反応前のこの溶液に含まれるスクロースホスホリラーゼおよび α -グルカンホスホリラーゼの少なくとも

一方、好ましくは両方の活性の約 20% 以上、好ましくは約 30% 以上の活性が残る温度であることが好ましい。この温度は好ましくは約 55℃～約 75℃であり、より好ましくは約 60℃～約 75℃であり、さらに好ましくは約 60℃～約 70℃、特に好ましくは約 60℃～約 65℃である。

【0249】

反応時間は、反応温度、反応により生産されるグルカンの分子量および酵素の残存活性を考慮して、任意の時間で設定され得る。反応時間は、代表的には約 1 時間～約 100 時間、より好ましくは約 1 時間～約 72 時間、さらにより好ましくは約 2 時間～約 36 時間、最も好ましくは約 2 時間～約 24 時間である。

【0250】

このようにして、グルカンを含む溶液が生産される。

【0251】

(5. 本発明の酵素を用いたグルコース-1-リン酸の合成方法)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、グルコース-1-リン酸の合成方法においても有利に用いられ得る。本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いるグルコース-1-リン酸の合成方法は、当該分野で公知の任意のグルコース-1-リン酸の合成方法であり得る。

【0252】

本発明のグルコース-1-リン酸の合成方法は、本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ、グルカンおよび無機リン酸を含む反応溶液を反応させて、グルコース-1-リン酸を生産する工程を包含する。

【0253】

本発明のグルコース-1-リン酸の合成方法において用いられるグルカンおよび無機リン酸の定義は、上記 4 と同様である。

【0254】

グルコース-1-リン酸の合成方法に用いられる材料の使用量は、公知であり、当業者によって適切に設定され得る。

【0255】

本発明のグルコース-1-リン酸の合成方法においては、まず、反応溶液を調

製する。反応溶液は、例えば、適切な溶媒に、 α -グルカンホスホリラーゼと、グルカンと、無機リン酸とを添加することにより調製され得る。あるいは、反応溶液は、 α -グルカンホスホリラーゼ、グルカン、または無機リン酸をそれぞれ含む溶液を混合することによって調製してもよい。あるいは、反応溶液は、 α -グルカンホスホリラーゼと、グルカンと、無機リン酸とのうちのいくつかの成分を含む溶液に固体状の他の成分を混合することによって調製してもよい。この反応溶液には、酵素反応を阻害しない限り、必要に応じて、pHを調整する目的で任意の緩衝剤を加えてもよい。この反応溶液には、必要に応じて枝切り酵素を添加してもよい。

【0256】

次いで、反応溶液を、当該分野で公知の方法によって必要に応じて加熱することにより、反応させる。反応温度は、本発明の効果が得られる限り、任意の温度であり得る。反応温度は代表的には、約30℃～約75℃の温度であり得る。この反応工程における溶液の温度は、所定の反応時間後に反応前のこの溶液に含まれる α -グルカンホスホリラーゼの活性の約20%以上、より好ましくは約30%以上の活性が残る温度であることが好ましい。この温度は好ましくは約55℃～約75℃であり、より好ましくは約60℃～約75℃であり、さらに好ましくは約60℃～約70℃、特に好ましくは約60℃～約65℃である。

【0257】

反応時間は、反応温度および酵素の残存活性を考慮して、任意の時間で設定され得る。反応時間は、代表的には約1時間～約100時間、より好ましくは約1時間～約72時間、さらにより好ましくは約2時間～約36時間、最も好ましくは約2時間～約24時間である。

【0258】

このようにして、グルコース-1-リン酸を含有する溶液が生産される。

【0259】

(6. 本発明の酵素を用いたその他の製造法)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、上記の製造法以外にも、 α -グルカンホスホリラーゼを使用する、当該分野で公知の任意の製造法において使

用され得る。これらの製造法に本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを利用することは当業者に容易に行われ得る。

【0260】

(7. 本発明の製造法によって得られたグルカンの用途)

本発明の製造法によって得られたグルカンは、グルカンについて当該分野で公知の用途に使用され得る。グルカンのなかでも特に、不溶性のアミロースには、食物繊維と同様の働きが予想され、健康食品への利用も期待できる。さらに、アミロースは、例えばヨウ素、脂肪酸などを分子内に包接し得る特徴を持つことから、医薬品、化粧品、サニタリー製品分野での用途が期待される。アミロースはまた、アミロースと同様の包接能力を持つシクロデキストリンおよびシクロアミロースの製造用原料に利用できる。さらに、アミロースを含有したフィルムは、汎用プラスチックに劣らない引張強度を持ち、生分解性プラスチックの素材として非常に有望である。このようにアミロースには、多くの用途が期待されている。

【0261】

(8. 本発明の合成方法によって得られたグルコース-1-リン酸の用途)

本発明の合成方法によって得られたグルコース-1-リン酸は、グルコース-1-リン酸について当該分野で公知の用途に使用され得る。グルコース-1-リン酸は、例えば、医療用抗菌剤、抗腫瘍剤（白金錯体）、心臓病の治療薬（アミン塩）、グルカン合成の基質として利用されている。

【0262】

以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、以下の実施例は、例示の目的のみに提供される。従って、本発明の範囲は、上記発明の詳細な説明にも下記実施例にも限定されるものではなく、特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0263】

【実施例】

(1. 測定方法および計算方法)

本発明における各種物質は、以下の測定方法によって測定した。

【0264】

(1. 1 グルコースの定量)

グルコースを、市販されている測定キットを用いて定量した。グルコースAR-I I 発色試薬（和光純薬社製）を用いて測定する。

【0265】

(1. 2 フルクトースの定量)

フルクトースを、市販されている測定キットを用いて定量した。F-キット D-グルコース/D-フルクトース（ロシュ社製）を用いて測定する。

【0266】

(1. 3 グルコース-1-リン酸の定量)

グルコース-1-リン酸を、以下の方法により定量した。300 μ l の測定試薬（200 mM Tris-HCl (pH 7.0)、3 mM NADP、15 mM 塩化マグネシウム、3 mM EDTA、15 μ M グルコース-1, 6-二リン酸、6 μ g/ml ホスホグルコムターゼ、6 μ g/ml グルコース-6-リン酸脱水素酵素）に、適切に希釈したグルコース-1-リン酸を含む溶液 600 μ l を加えて攪拌し、得られた反応混合物を 37℃ で 30 分間反応させる。その後、分光光度計を用いて 340 nm での吸光度を測定する。濃度既知のグルコース-1-リン酸ナトリウムを用いて同様に吸光度を測定し、標準曲線を作成する。この標準曲線に試料で得られた吸光度を当てはめ、試料中のグルコース-1-リン酸濃度を求める。通常は、1 分間に 1 μ mol のグルコース-1-リン酸を生成する活性を 1 単位とする。この定量法では、グルコース-1-リン酸のみが定量され、無機リン酸の量は定量されない。

【0267】

(1. 4 無機リン酸の定量)

無機リン酸を、リン酸イオンとして以下の方法により求めた。無機リン酸を含む溶液（200 μ l）に対し、800 μ l のモリブデン試薬（15 mM モリブデン酸アンモニウム、100 mM 酢酸亜鉛）を混合し、続いて 200 μ l の 568 mM アスコルビン酸（pH 5.0）を加えて攪拌し、得られた反応混合物を 37℃ で 30 分間反応させる。その後、分光光度計を用いて 850 nm での吸光度を測定する。濃度既知の無機リン酸を用いて同様に吸光度を測定し、標準曲線

を作成する。この標準曲線に試料で得られた吸光度を当てはめ、試料中の無機リン酸を求める。この定量法では、無機リン酸の量が定量され、グルコース-1-リン酸の量は定量されない。

【0268】

(1.5 グルコース-1-リン酸から製造したグルカンの収率の計算方法)
スクロースホスホリラーゼを用いず、 α -グルカンホスホリラーゼおよび出発物質としてグルコース-1-リン酸を用いて製造したグルカン（例えば、アミロース）の収率は、反応終了後の溶液中の無機リン酸、グルコースの量から、以下の式により求められる。

【0269】

【数3】

$$\begin{aligned} & \text{(グルカンの収率 (\%))} \\ &= (\text{グルカン合成に使われたグルコース (mM)}) + (\text{初発のグルコース-1-リン酸 (mM)}) \times 100 \\ &= \{ (\text{反応により生成された無機リン酸 (mM)}) - (\text{反応後のグルコース (mM)}) \} \\ & \quad \div (\text{初発のグルコース-1-リン酸 (mM)}) \times 100 \end{aligned}$$

【0270】

(1.6 スクロースから製造したグルカンの収量の計算方法)
SP-GP法において出発物質として無機リン酸を用いて製造したグルカン（例えば、アミロース）の収量は、反応終了後の溶液中の、グルコース、フルクトース、およびグルコース-1-リン酸の量から、以下の式により求められる。

【0271】

【数4】

$$\begin{aligned} & \text{グルカン (mM グルコース当量)} \\ &= (\text{フルクトース (mM)}) - (\text{グルコース-1-リン酸 (mM)}) - (\text{グルコース (mM)}) \end{aligned}$$

【0272】

この式は、以下の原理に基づく。

【0273】

本発明の方法では、まず、以下の式の反応(A)が起き得る。

【0274】

【化2】

(A) スクロース + 無機リン酸 \rightarrow グルコース-1-リン酸 + フルクトース

【0275】

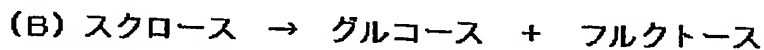
この反応は、スクロースホスホリラーゼにより触媒される。この反応では、スクロースと無機リン酸とが反応して、同じモル量のグルコース-1-リン酸とフルクトースとが生じる。生じたフルクトースはそれ以上他の物質と反応しないので、フルクトースのモル量を測定することによって生じたグルコース-1-リン酸のモル量がわかる。

【0276】

スクロースホスホリラーゼは、上記の反応（A）の他に、以下の反応（B）のスクロースの加水分解も副反応として触媒し得る。

【0277】

【化3】



【0278】

グルカンに取り込まれたグルコース量は以下によって計算される。

【0279】

【数5】

グルカンに取り込まれたグルコース量

= (反応Aにより生成されたグルコース-1-リン酸量) - (未反応のグルコース-1-リン酸量)

= (反応Aにより生成されたフルクトース量) - (未反応のグルコース-1-リン酸量)

【0280】

反応（B）で生成するフルクトースを考慮すると、反応Aにより生成されたフルクトースの量は、以下によって算出される：

【0281】

【数6】

(反応Aにより生成されたフルクトースの量)

= (反応終了後のフルクトース量) - (反応終了後のグルコース量)

【0282】

したがって、グルカンの収量は、以下の式により求められる。

【0283】

【数7】

(グルカン (mM グルコース当量))

$$= (\text{フルクトース (mM)}) - (\text{グルコース-1-リン酸 (mM)}) - (\text{グルコース (mM)})$$

【0284】

出発物質として、グルコース-1-リン酸を用いて製造したグルカンの収量は、初発のグルコース-1-リン酸の量、ならびに反応終了後の溶液中のグルコース、フルクトースおよびグルコース-1-リン酸の量から、以下の式により求められる。

【0285】

【数8】

(グルカン (mM グルコース当量))

$$= (\text{初発のグルコース-1-リン酸 (mM)}) + (\text{フルクトース (mM)}) - (\text{グルコース (mM)}) - (\text{反応後のグルコース-1-リン酸 (mM)})$$

【0286】

この式は以下の原理に基づく。

【0287】

反応溶液中では、初発のグルコース-1-リン酸に加えて、反応Aによって、グルコース-1-リン酸が生成される。つまり、初発のグルコース-1-リン酸と生成されたグルコース-1-リン酸とが、グルカンの合成に使われ得る。グルカンの合成に使われ得るグルコース-1-リン酸の量から、反応終了後に反応溶液に残存するグルコース-1-リン酸の量を差し引くことによって、反応に使用されたグルコース-1-リン酸の量、すなわち、グルカンに取り込まれたグルコースの量を算出できる。したがって、グルカンに取り込まれたグルコースの量は上記に示す式により求められる。なお、この式は、SP-GP反応系において出発材料として無機リン酸とグルコース-1-リン酸とを併用した場合にも適用できる。

【0288】

(1.7 スクロースから製造したグルカンの収率の計算方法)

出発物質として無機リン酸を用いて製造した場合のグルカンの収率は、以下の式によって求められる。

【0289】

【数9】

$$\begin{aligned} & (\text{グルカン収率}(\%)) \\ & = (\text{グルカン}(\text{mM グルコース当量})) \div (\text{初発スクロース}(\text{mM})) \times 100 \end{aligned}$$

【0290】

出発物質としてグルコース-1-リン酸を用いて製造した場合のグルカンの収率は、以下の式によって求められる。

【0291】

【数10】

$$\begin{aligned} & (\text{グルカン収率}(\%)) \\ & = \{ (\text{初発のグルコース-1-リン酸}(\text{mM})) + (\text{フルクトース}(\text{mM})) \\ & \quad - (\text{グルコース}(\text{mM})) - (\text{反応後のグルコース-1-リン酸}(\text{mM})) \} \\ & \quad \div \{ (\text{初発スクロース}(\text{mM})) + (\text{初発のグルコース-1-リン酸}(\text{mM})) \} \times 100 \end{aligned}$$

【0292】

なお、この式は、SP-GP反応系において出発材料として無機リン酸とグルコース-1-リン酸とを併用した場合にも適用できる。

【0293】

(実施例1：耐熱化馬鈴薯 α -グルカンホスホリラーゼの作製、スクリーニングおよび配列決定)

概略を述べると、馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子にランダム変異を導入し、ランダム変異の導入された遺伝子が大腸菌に導入して、ランダム変異の導入された α -グルカンホスホリラーゼを発現させ、発現された α -グルカンホスホリラーゼのうち、60℃で10分間加熱した後、グルカンを合成する能力を有する耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを発現する大腸菌を選択し、この大腸菌から耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子を単離してその配列を決定した。

【0294】

詳細には、以下の通りである。

【0295】

まず、馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼ(GP)の遺伝子を調製した。Takahara (Journal of Biological

Chemistry, 268巻、1391-1396頁、1993年)の記載に従って、馬鈴薯塊茎より、mRNAを周知の方法で調製し、cDNAライブラリーを市販のキットを用いて作製した。

【0296】

次に、既知のGP遺伝子配列(データベースGenBank アクセションナンバーD00520)を基に、PCRプライマー1およびPCRプライマー2を設計した。上述のcDNAライブラリーを鋳型として、PCRプライマー1および2として

PCRプライマー1: 5' AAATCGATAGGAGGAAAACAT AT
G ACC TTG AGT GAG AAA AT 3'

および

PCRプライマー2: 5' GAAGGTACCTTTTCATTCACTTCC
CCCTC 3'

を用いてPCRを行い、馬鈴薯由来のGPの遺伝子を増幅した。PCRの条件は、94℃で30秒間、50℃で1分間、72℃で3分間を1サイクルとして、30サイクルというPCR反応であった。なおPCRプライマー1のアンダーラインの部分が、タイプL GPの成熟タンパク質のN末端部分の構造遺伝子配列に対応しており、PCRプライマー2のアンダーラインの部分が、タイプL GP構造遺伝子の終止コドン直後の遺伝子配列に対応している。

【0297】

増幅されたGP遺伝子を、Sma Iであらかじめ切断したプラスミドpMW118(日本ジーン株式会社製)に挿入し、図2のような配列をもった、プラスミドを選択した。このプラスミドを、リン酸カルシウム沈澱法によって大腸菌TG-1に導入し、アンピシリン耐性株を選択し、このアンピシリン耐性株を培養し、このアンピシリン耐性株からプラスミドを回収することにより、馬鈴薯由来のタイプL GP遺伝子を得た。

【0298】

得られた馬鈴薯由来タイプL GP遺伝子に対して、当業者に公知のエラーブローンPCR法(参考文献Leungら(Technique 1, 11-15

, 1989) および Cadwell および Joyce (PCR Methods Applic. 2, 28-33, 1992)) により、PCRプライマー3およびPCRプライマー4として

PCRプライマー3: 5' -TTCGGATCCTCACCTTGAGTGA
GAAAATTCAC-3'

および

PCRプライマー4: 5' -TTCGGATCCTTTTCATTCACTT
CCCCCTC-3'

を用いて、94℃で20秒間、50℃で20分間、72℃で3分間を1サイクルとして、25サイクルのPCR反応を行った。増幅されたDNA断片には平均2～3ヶ所の塩基置換が導入された。なおPCRプライマー3のアンダーラインの部分が、タイプL GPの成熟タンパク質のN末端部分の構造遺伝子配列に対応しており、PCRプライマー4のアンダーラインの部分が、タイプL GP構造遺伝子の終止コドン直後の遺伝子配列に対応している。

【0299】

ランダム変異の導入されたGP遺伝子増幅断片を、BamHIであらかじめ切断したプラスミドpET3d (STRATAGENE製)に挿入し、ランダム変異の導入された耐熱性GPのスクリーニングのためのプラスミドライブラリーを作製した。このプラスミドで大腸菌BL21 (DE3)を形質転換し、形質転換体をアンピシリン含有LB寒天培地 (50 μ g/mlアンピシリン、Difco製トリプトン1%、Difco製酵母エキス1%、NaCl 0.5%、0.7% アガロース、pH 7.3)に、独立したコロニーが得られるように希釈して塗布し、30℃で24時間培養した。得られたプレート上のコロニーをナイロンメンブレンフィルターにうつしとった。コロニーが付着したフィルターの表面を充分乾かした後、このフィルターを20mMクエン酸緩衝液 (pH 6.7)中で、60℃10分間インキュベートした。コロニーをうつしとった後のプレートをさらに37℃で数時間インキュベートし、その後、マスタープレートとして4℃で保存した。熱処理したフィルターをグルカン合成の基質を含むゲル (0.05% デキストリン、50mM G-1-P、100mMクエン酸Buffer

(pH 6.7) 0.7% Agaroseを含む) にコロニー付着面がゲル表面と密着するように合わせ、50℃で2時間インキュベートした。ゲルからはがしたフィルターをヨウ素液(0.1% ヨウ化カリウム、0.01% ヨウ素)にひたし、フィルター上に合成されたグルカンを経典素デンプン反応で検出した。青く染まったスポットに対応するコロニーをマスタープレートから単離した。

【0300】

このようにして得られた各々の大腸菌から当該分野で公知の方法に従ってプラスミドを回収し、DNAシーケンサー(ABI社製)を用いてこのプラスミド中の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子の塩基配列を決定した。

【0301】

この耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子によってコードされるアミノ酸配列を、天然の馬鈴薯タイプLの(すなわち、変異させる前の) α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列と比較したところ、天然の馬鈴薯タイプLの α -グルカンホスホリラーゼの39、135、または706番目にあたるアミノ酸の位置に変異が導入されており、それぞれF39→L、N135→S、T706→Iにアミノ酸置換されていた。また、F39においてL以外のアミノ酸、N135においてS以外のアミノ酸、T706においてI以外のアミノ酸に変異したものについても耐熱化が見られる。

【0302】

(実施例2-1: 部位特異的変異誘発による耐熱化馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼの作製)

本実施例では、実施例1で耐熱化に寄与することが判明した位置の置換を1つのみ有する耐熱化GPと、いずれか2つの組み合わせで有する耐熱化GPと、3つ全てを有する耐熱化GPとを作製した。例として、3つすべての変異を有する耐熱化GP(F39L、N135S、T706I)のアミノ酸配列を配列番号34に、そしてそれをコードする塩基配列を配列番号33に示す。また、比較のために、39位、135位および706位のアミノ酸は置換せず、かつ、これらのアミノ酸位置と全く関係のない位置のアミノ酸を置換したGP(467位のリジンのみをアスパラギンに置換したGPおよび711位のトレオニンのみをアラニ

ンに置換したGP)を作製した。アミノ酸置換の方法は多数公開されている(参考文献Kinkel, T. A., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:488 (1995), Vandeyar, M. ら, Gene, 65:129-133 (1988), Sugimoto, M. ら, Anal. Biochem., 179:309-311 (1989), Taylor, J. W. およびEckstein, F., Nucl. Acids Res., 13:8764 (1985), Nelson, M. およびMcClelland, M., Methods Enzymol., 216:279-303 (1992))が、本発明ではQuick change XL Site-Directed Mutagenesisキット(STRATAGENE製)を使用した。実施例1で示した、プラスミドpMW-118中に挿入された馬鈴薯由来タイプL GP遺伝子を含むプラスミドを鋳型として、Y39、N135、T706、K467またはT711という変異を導入するために、それぞれの変異導入位置を中心に約35bp程度の相補的なそれぞれ1組の変異導入プライマーを作製して用い、PCRをすることによって部位特異的変異誘発を行った。このようにして得られた耐熱化GPをコードする遺伝子を含むプラスミドpMW-PGPを作製した。このプラスミドで、大腸菌TG-1を形質転換し、形質転換体をアンピシリン含有LB寒天培地(50 μ g/mlアンピシリン、Difco製トリプトン1%、Difco製酵母エキス1%、NaCl 0.5%、0.7% アガロース、pH 7.3)に独立したコロニーが得られるように希釈して塗布し、37℃で一晩培養した。このアンピシリン含有LB寒天培地で増殖した大腸菌は、導入したプラスミドを保有する。このようにして、耐熱化GPを発現する大腸菌が作製できた。なお、実施例2-1で得られた大腸菌に含まれるプラスミドが、目的の変異を有する耐熱化GPをコードする変異GP遺伝子を有することを、得られたそれぞれの大腸菌からプラスミドを抽出し、GPをコードする遺伝子の配列決定をすることによって確認した。

【0303】

実施例2-1で得られた大腸菌が発現するGPが耐熱化されていることは、以下の通りに確認した。導入したプラスミドを保持する大腸菌TG-1をアンピシ

リン含有LB培地 ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$ アンピシリン、Difco製トリプトン1%、Difco製酵母エキス0.5%、NaCl 1%、pH 7.3) に植菌し、まず37℃で対数中期まで増殖させたあと温度を22℃程度にまで下げ、遺伝子発現誘導物質であるイソプロピル β -D-チオガラクトシドを終濃度0.1mMになるように添加して22℃で約20時間培養した。培養液を遠心分離することにより、菌体を回収し、菌体を緩衝液に懸濁し、超音波処理することにより、菌体抽出液を得た。この菌体抽出液を60℃で30分処理することにより、GP標品を得た。

【0304】

得られたGP標品を用いて、スクロースおよびプライマーにスクロースホスホリラーゼと α -グルカンホスホリラーゼとを作用させる方法（国際公開第WO02/097107号パンフレットに記載された方法）により、グルカン製造を行ったところ、いずれの耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼについても、高い収率で高分子グルカンを得ることができた。

【0305】

一方、耐熱化に無関係な位置のアミノ酸を置換したGPは、60℃で30分間の処理によって失活し、グルカンを製造することができなかった。

【0306】

（実施例2-2：部位特異的変異誘発による耐熱化馬鈴薯タイプH α -グルカンホスホリラーゼの作製）

馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの遺伝子の代わりに馬鈴薯由来のタイプH α -グルカンホスホリラーゼの遺伝子を用いたこと以外は実施例2-1と同様にして、耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子を含むプラスミドを作製し、そしてGP標品を得た。本実施例では、実施例1で耐熱化に寄与することが判明した位置の置換のうち、馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼのN135SまたはT706Iに相当する位置（それぞれ、133位および628位）の置換を1つのみ有する耐熱化GPを作製した。

【0307】

これらのGP標品を用いて、実施例2-1と同様に60℃で30分間処理した

後グルカン製造を行ったところ、いずれの耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼについても、馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸を1つ置換することによって耐熱化した実施例2-1の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼとほぼ同レベルの耐熱性を有することがわかった。

【0308】

(実施例3: 各種耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの大量調製および耐熱性比較)

(1) 酵素の大量調製

上記実施例2で作製した、耐熱化GPを発現する大腸菌をそれぞれ、TB培地(Terrific broth (GIBCO) 47 g/L、グリセロール4 ml/Lおよび50 μ g/mlアンピシリンを含む)で37℃で5時間培養し、最終濃度が0.1 mM IPTGおよび1 mM 塩酸ピリドキシンとなるようにこの培養液にIPTGおよび塩酸ピリドキシンを加え、さらに22℃で24時間培養した。次いで、培養液を遠心分離することにより菌体を回収し、20 mMクエン酸緩衝液で培地成分を洗浄し、除去した。洗浄後の菌体を20 mMクエン酸緩衝液に懸濁し、超音波破碎機によって菌体を破碎し、遠心分離し、その上清を菌体抽出液とした。得られた菌体抽出液を、予め平衡化されたQ-Sepharose FFカラムにロードし、20 mMクエン酸緩衝液(pH 6.7)中、0.1 Mから0.3 MのNaClの濃度勾配で溶出する、耐熱化GP含有画分を回収した。回収した酵素画分を、予め平衡化したPhenyl-Toyopearl 650 Mカラムにロードし、20 mMクエン酸緩衝液中17.5%から7.5%の飽和硫酸濃度勾配で溶出する、耐熱化GP含有画分を回収した。回収した酵素画分を、予め平衡化したHiTrap HRPカラムにロードし、20 mMクエン酸緩衝液中、0.1 Mから0.4 MのNaClの濃度勾配で溶出し、活性画分を回収した。得られた活性画分をさらに、予め平衡化されたResource Qのカラムにロードし、20 mMクエン酸緩衝液中、0.1 Mから0.4 MのNaClの濃度勾配で溶出し、精製酵素含有活性画分を回収した。

【0309】

得られた精製酵素含有活性画分を、約1 μ gのネイティブPAGE (Native

ve polyacrylamide gel electrophoresis)を行った。その結果、耐熱化GPを発現するいずれの大腸菌についても、分子量約18万のところに単一のバンドが認められ、他の場所にはバンドが見られなかった。GPは、アミノ酸配列から分子量が約9万であると予測されるので、ダイマー構造をとっていると考えられる。このようにして、耐熱化GPが均質に精製されたことが示された。

【0310】

(2) 精製された耐熱化GPの活性測定

上記(1)で精製された耐熱化GPの活性を測定した。測定は、以下の通りに行った。まず、200 μ lの反応液(100mM 酢酸緩衝液(pH6.0)中、12.5mM G-1-P、1%デキストリンおよび酵素液を含む)を37℃に15分間インキュベートした。次いで、800 μ lのモリブデン試薬(15mM モリブデン酸アンモニウム、100mM 酢酸亜鉛)を加え、攪拌し反応を停止させた。次いで、200 μ lの568mMのアスコルビン酸(pH5.8)を加え、混合し、37℃に15分間インキュベートした後、分光光度計を用いて850nmの吸光度を測定した。なお、本実施例において、GP酵素活性はG-1-Pから生じた遊離の無機リン酸を定量することによって測定された。1分間に1 μ molの無機リン酸を生成する酵素量を1単位(U)とした。

【0311】

(3) 耐熱化GPの60℃および65℃での耐熱性比較

(1)で精製されたそれぞれの耐熱化GPの60℃および65℃での耐熱性比較を比較した。対照として、同じ方法で精製した天然の(変異させていない)馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼを用いた。

【0312】

まず、0.2U/mlの精製酵素液(20mMクエン酸緩衝液(pH6.7)中)を60℃または65℃で0~30分間インキュベートした。0、2、10、20、30分などの各時間で酵素液の一部を取り出し、氷中に保持した。氷中に保持された酵素液を20mMクエン酸緩衝液(pH6.7)で10倍希釈し、上記(2)に記載の活性測定法に従い酵素活性を測定した。酵素の耐熱性を、60

℃または65℃にインキュベートする前の酵素の37℃における酵素活性を100%としたときの、インキュベート後の酵素の37℃における酵素活性の割合（すなわち、残存活性）によって判断した。60℃でインキュベートした場合の結果を以下の表5に示す。65℃でインキュベートした場合の結果を以下の表6に示す。

【0313】

【表5】

60℃でインキュベートした場合の残存活性 (%)

時間 (分)	天然の 馬鈴薯 タイプL	F39L	N135S	T706I	F39L +N135S	F39L +T706I	N135S +T706I	F39L +N135S +T706I
0	100	100	100	100	100	100	100	100
10	8.4	61.2	65.4	70.5	101	100	101	98.8
20	1.2	58.3	55.2	50.8	99.6	100	100	96.3
30	0.7	34.7	52.1	36.6	98.3	101	98.5	94.6

【0314】

【表6】

65℃でインキュベートした場合の残存活性 (%)

時間 (分)	天然の 馬鈴薯 タイプL	F39L	N135S	T706I	F39L +N135S	F39L +T706I	N135S +T706I	F39L +N135S +T706I
0	100	100	100	100	100	100	100	100
2	1.3	40.2	86.5	22.9	86.8	50.8	61.9	90.3
10	0	0.5	1.4	0.3	18.2	9.3	16.9	61.1
20	0	0.4	0.6	0.3	2.9	0.9	2.8	47.7
30	0	0.4	0.2	0.3	0.2	0.2	0.7	31.4

【0315】

上記の表5および表6において、天然の馬鈴薯タイプLとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼを示す。F39Lとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの39位のフェニルアラニンがロイシンに置換されたものを示す。T706Iとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの706位のトレオニンがイソロイシンに置換

されたものを示す。N135Sとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの135位のアスパラギンがセリンに置換されたものを示す。F39L+T706Iとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの39位のフェニルアラニンがロイシンに置換され、かつ706位のトレオニンがイソロイシンに置換されたものを示す。N135S+T706Iとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの135位のアスパラギンがセリンに置換され、かつ706位のトレオニンがイソロイシンに置換されたものを示す。F39L+N135Sとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの39位のフェニルアラニンがロイシンに置換され、かつ135位のアスパラギンがセリンに置換されたものを示す。F39L+N135S+T706Iとは、天然の馬鈴薯由来のタイプL α -グルカンホスホリラーゼの39位のフェニルアラニンがロイシンに置換され、かつ、135位のアスパラギンがセリンに置換され、かつ、706位のトレオニンがイソロイシンに置換されたものを示す。表5および表6の結果のうち、60℃で30分間の加熱の結果および65℃で2分間加熱の結果を図3にグラフとして示す。

【0316】

この結果、本発明の耐熱化GPが天然の馬鈴薯タイプL GPと比較して耐熱性が非常に向上していることがわかった。耐熱性の劣ったものから、耐熱性の優れたものまで順に並べると次のようになる：天然の馬鈴薯タイプL GP < F39L < T706I < N135S < F39L+T706I < N135S+T706I < F39L+N135S < F39L+N135S+T706I。耐熱性に寄与する3箇所のアミノ酸残基は、1箇所置換されるだけでも耐熱性が向上した。さらに、これらのアミノ酸残基が多重置換されることによって、耐熱性が劇的に向上することがわかった。

【0317】

(実施例4：耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いた、重量平均分子量600kDa以上のアミロースの合成)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いて、重量平均分子量600kDa以上のアミロース合成が可能であることを調べた。耐熱化 α -グルカンホ

スホリラーゼとして、上記実施例3で調製された各種耐熱化GP（一重変異体F39L、一重変異体N135S、一重変異体T706I、二重変異体（F39L、N135S）、二重変異体（F39L、T706I）、二重変異体（N135S、T706I）および三重変異体（F39L、N135S、T706I））のうちのいずれかを用いた。

【0318】

対照として、*Bacillus stearothermophilus*由来の α -グルカンホスホリラーゼ（*Bacillus stearothermophilus*とも示す）、*Thermus aquaticus*由来の α -グルカンホスホリラーゼ（*Thermus aquaticus*とも示す）を用いた。

【0319】

アミロース合成反応を、以下の表7に記載の組成の反応系を用いて50℃で18時間行った。

【0320】

【表7】

反応液組成	
マルトテトラオース（G4）	40 μ M
グルコース-1-リン酸	250 mM
酢酸緩衝液（pH 5.5）	200 mM
α -グルカンホスホリラーゼ	4 U/ml

【0321】

この反応によって合成されたアミロースの収率を上記の「1. 測定方法および計算方法」の1.5に記載の計算方法により計算した。

【0322】

この反応によって合成されたアミロースの重量平均分子量を以下の方法により測定した。この反応によって合成されたアミロースを1N水酸化ナトリウムで完全に溶解し、適当量の塩酸で中和した後、アミロース約30～300 μ g分を、示差屈折計と多角度光散乱検出器を併用したゲル濾過クロマトグラフィーに供す

ることにより重量平均分子量を求めた。

【0323】

詳しくは、カラムとしてShodex SB806M-HQ（昭和電工製）を用い、検出器としては多角度光散乱検出器（DAWN-DSP、Wyatt Technology社製）および示差屈折計（Shodex RI-71、昭和電工製）をこの順序で連結して用いた。カラムを40℃に保ち、溶離液としては0.1M硝酸ナトリウム溶液を流速1mL/分で用いた。得られたシグナルを、データ解析ソフトウェア（商品名ASTRA、Wyatt Technology社製）を用いて収集し、同ソフトを用いて解析することにより、重量平均分子量を求めた。この方法を、MALLS分析法ともいう。

【0324】

このようにして求められた、合成されたアミロースの収率および分子量を、以下の表8に示す。

【0325】

【表8】

合成されたアミロースの収率および分子量		
α -グルカンホスホリラーゼ	アミロース の収率 (%)	アミロース の分子量 (kDa)
耐熱化GP (F39L)	51.2	668
耐熱化GP (N135S)	47.8	735
耐熱化GP (T706I)	45.3	675
耐熱化GP (F39L, N135S)	44.7	673
耐熱化GP (F39L, T706I)	47.5	706
耐熱化GP (N135S, T706I)	42.7	655
耐熱化GP (F39L, N135S, T706I)	52.3	645
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	17.3	20.0
<i>Thermus aquaticus</i>	27.8	44.3

【0326】

以上のように、本発明の耐熱化GPは、重量平均分子量約600kDa以上の高分子量のアミロースを合成し得ることがわかった。また、本発明の耐熱化GP

は、アミロースの収率が約40%以上であることがわかった。比較例として用いた *Bacillus stearothermophilus* GP と *Thermus aquaticus* GP とは耐熱性を有する酵素であるが高分子量のアミロースを合成することはできなかった。

【0327】

(実施例5: 耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いたスクロースからのアミロース合成)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いてスクロースを原料としてアミロースを合成した。耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼとして、上記実施例3で調製された各種耐熱化GP (一重変異体F39L、一重変異体N135S、一重変異体T706I、二重変異体(F39L、N135S)、二重変異体(F39L、T706I)、二重変異体(N135S、T706I) および三重変異体(F39L、N135S、T706I)) のうちのいずれかを用いた。

【0328】

アミロース合成反応を、以下の表9に記載の組成の反応系を用いて50℃で18時間行った。

【0329】

【表9】

反応液組成	
スクロース	58.5mM
マルトテトラオース (G4)	10 μ M
無機リン酸 (Pi)	10 mM
スクロースホスホリラーゼ	1 U/ml
α -グルカンホスホリラーゼ	1 U/ml

【0330】

この反応によって合成されたアミロースの収率(%)を、上記の「1. 測定方法および計算方法」の1.7に記載の計算式により計算した。

【0331】

この反応によって合成されたアミロースの重量平均分子量を上記実施例4と同

様の方法により測定した。このようにして求められた、合成されたアミロースの収率および重量平均分子量を以下の表10に示す。

【0332】

【表10】

合成されたアミロースの収率および重量平均分子量		
α -グルカンホスホリラーゼ	アミロース の収率 (%)	アミロースの 重量平均分子量 (kDa)
耐熱化GP (F39L)	50.8	672
耐熱化GP (N135S)	47.8	740
耐熱化GP (T706I)	44.6	675
耐熱化GP (F39L, N135S)	44.9	674
耐熱化GP (F39L, T706I)	47.5	707
耐熱化GP (N135S, T706I)	42.9	657
耐熱化GP (F39L, N135S, T706I)	52.3	649

【0333】

以上のように、本発明の耐熱化GPは、天然のGPと同様にスクロースを原料としたアミロースを合成した場合も、約600kDaの高分子量のアミロースを合成しうることがわかった。また、アミロース収率も天然のGPと同様に約40%以上と高いことがわかった。

【0334】

(実施例6：高温条件下(50℃、55℃および60℃)での耐熱化GPを用いた、グルコース-1-リン酸からのグルカン合成)

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを用いて、グルコース-1-リン酸を原料として、高温条件下でアミロースを合成した。実施例3で精製された耐熱化GP(三重変異体(F39L、N135S、T706I))を用い、対照として同じ方法で精製された天然の馬鈴薯タイプL GPを用いた。

【0335】

G-1-P 6.1g、マルトテトラオース(G4) 0.3g、GP 20U/Lを含む反応液を37℃、50℃、55℃または60℃に18時間保持することによって、アミロース合成反応を行った。反応生成物中のアミロース合成量

を経時的に調べた。アミロース合成量を、上記の「1. 測定方法および計算方法」の1. 5に記載されたグルコース-1-リン酸から製造したグルカンの収量の計算方法に従って計算した。18時間反応後のアミロース合成量を以下の表11および図7に示す。

【0336】

【表11】

アミロース合成量 (g)		
反応温度	天然の馬铃薯 タイプL GP	耐熱化GP
37℃	2.8	3.1
50℃	3.2	3.3
55℃	2.5	2.7
60℃	0	1.5

【0337】

耐熱化GPを用いた場合、37℃、50℃および55℃では約3gのアミロースが合成され、60℃でも、約1.5gのアミロースが合成できた。一方、天然の馬铃薯タイプL GPを用いた場合、37℃、50℃および55℃ではアミロースが合成されたが、60℃ではアミロースはまったく合成されなかった。これは、天然の馬铃薯タイプL GPは、60℃では、反応の初期段階にGPが失活したためと考えられる。一方、耐熱化GPは60℃でも安定に酵素活性を保持していたため、アミロース合成反応が充分行われたと考えられる。また、37℃、50℃、55℃および60℃の各温度において、耐熱化GPを用いた場合、天然の馬铃薯タイプL GPを用いた場合よりもアミロース合成量が多かった。耐熱化GPを用いた場合のアミロース合成量は、反応時間が延長されるとさらに増加すると考えられる。以上のように、本発明の耐熱化GPは、天然の馬铃薯タイプL GPでは反応できない60℃において、グルカン合成が可能であることがわかった。

【0338】

(実施例7 65℃および70℃での耐熱化GPを用いたグルコース-1-リ

ン酸からのグルカン合成)

実施例 6 と同様に実施例 3 で精製された耐熱化 GP (三重変異体 (F 3 9 L、N 1 3 5 S、T 7 0 6 I)) を用いて、さらに高温条件下でのグルコース-1-リン酸からのグルカン合成を行った。対照として天然の馬鈴薯タイプ L GP を用いた。

【0339】

G-1-P 15.2 g、マルトテトラオース (G 4) 2.7 g、GP 200 U/L を含む反応液を 37℃、65℃または 70℃に 4 時間保持することによって、アミロース合成反応を行った。アミロース合成量を、「1. 測定方法および計算方法」の 1.5 に記載されたグルコース-1-リン酸から製造したグルカンの収量の計算方法に従って計算した。反応 4 時間後、天然の馬鈴薯タイプ L GP を用いた場合、65℃および 70℃ではアミロースはまったく合成されなかったが、耐熱化 GP を用いた場合、15.2 g の G-1-P から、65℃では約 9.3 g のアミロースが、70℃では約 1 g のアミロースが合成された。この結果、天然の馬鈴薯タイプ L GP は、65℃~70℃ではアミロースを合成できないが、耐熱化 GP は 70℃という高温でも GP 活性を保持しており、アミロース合成能を有することがわかった。

【0340】

実施例 6 および 7 の結果から、本発明の耐熱化 GP は、天然の馬鈴薯タイプ L GP ではまったく反応できない高温条件下において、アミロース合成能を有することがわかった。

【0341】

(実施例 8: 加熱処理による夾雑タンパク質の除去の確認)

加熱処理によって耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼの精製が容易にできることを以下の方法で確認した。

【0342】

実施例 2-1 で作製した耐熱化 GP (三重変異体 (F 3 9 L、N 1 3 5 S、T 7 0 6 I) 遺伝子を発現する大腸菌 (TG-1) を、実施例 2-1 と同様に LB 培地で培養した。コントロールとして天然の馬鈴薯タイプ L α -グルカンホス

ホリラーゼを発現する大腸菌 (TG-1) を、実施例 2-1 と同様に LB 培地で培養した。培養液を遠心分離することにより、菌体を回収し、菌体を緩衝液に懸濁し、超音波処理することにより、菌体抽出液を得た。この菌体抽出液を 60℃ の水浴中で 0~60 分間加熱後、遠心分離することにより不溶性のタンパク質を除去し、上清を得た。この上清の GP 活性およびタンパク量を測定し、GP 酵素の比活性を求めた。GP 活性は実施例 3 に記述した活性測定方法を用いて測定し、タンパク量はブラッドフォード法 (Bradford, M., Anal. Biochem., 72, 248~254 (1976)) を用いて測定した。ブラッドフォード法は溶液中に含まれる全てのたんぱく質に発色性基質を結合させる、比色検定法である。ここでは、プロテインアッセイキット (日本バイオラッドラボラトリーズ (株)) を用いウシグロブリンを標準として測定した。

【0343】

以下の方法で GP 酵素の比活性を算出した。

比活性 (U/ml)

= (α-グルカンホスホリラーゼ活性) / (上清に含まれるタンパク質の質量 mg)

図 6 に耐熱化 GP 酵素 (図 6 において耐熱化 GP (F39L, N135S, T706I と示す)) および天然の馬鈴薯タイプ L GP 酵素の比活性の経時的変化を示した。

【0344】

図 6 に示したように耐熱化 GP は 60℃ の加熱により、比活性が約 10 倍になった。夾雑タンパク質はほとんど熱変性し除去された。これに比べて天然の馬鈴薯タイプ L GP の比活性は、経時的に低下した。これは夾雑タンパク質だけでなく GP タンパク質も変性したためと考えられる。このように耐熱化 GP は熱処理により簡便に精製され得ることがわかった。

【0345】

(実施例 9: 加熱処理による夾雑タンパク質の除去の確認)

実施例 8 と同様に、耐熱化 GP (三重変異体 (F39L, N135S, T706I)) 遺伝子を発現する大腸菌 (TG-1) を培養した後、菌体抽出液を調製

した。この菌体抽出液を用いて、60℃の熱処理により、アミラーゼ活性およびホスファターゼ活性を、アミロースまたはG-1-Pの工業的な生産に利用できるレベルに低下させることができることを確認した。

【0346】

実施例8と同様に、菌体抽出液を60℃の水浴中で30分間加熱後、遠心分離することにより不溶性のタンパク質を除去し、上清を得た。この上清のホスファターゼ活性およびアミラーゼ活性を測定した。

【0347】

ホスファターゼ活性は、この上清100 μ lと50mM グルコース-1-リン酸 100 μ lを含む反応液を37℃60分間保持した後、反応液中のグルコース1リン酸から生じた遊離の無機リン酸を（1. 測定方法および計算方法）に記述された方法で定量することにより測定した。1分間に1mlの無機リン酸を生成する酵素量を1単位（U）とした。アミラーゼ活性は上清25 μ lと0.5%アミロース（重量平均分子量約50kDa）25 μ lとを含む反応液を37℃60分間保持した後、1mlのヨウ素液（（0.1% ヨウ化カリウム、0.01%））を加え、反応液中のアミロースの低分子化に伴うヨウ素呈色の減少率を測定することにより求めた。1分間にA660の吸光度を10%低下させる活性を1Uとした。

【0348】

【数11】

アミラーゼ活性（U/分）

$$= \frac{(\text{反応前のA660nmの吸光度} - \text{反応後のA660nmの吸光度})}{(\text{反応前のA660nmの吸光度}) \times 100 \div 10 \div (\text{時間 (分)})}$$

【0349】

以下の表12に菌体抽出液中のホスファターゼ活性ならびにアミラーゼ活性の残存率を示した。

【0350】

表12に示したように菌体抽出液の加熱前の各活性を100%としたときのホスファターゼ活性ならびにアミラーゼ活性は、60℃加熱後、ホスファターゼ活

性が約 3 %、アミラーゼ活性が約 0.3 %と、これら 2 つの夾雑タンパク質はほとんど失活した。

【0351】

【表 12】

	ホスファターゼ 活性 (%)	アミラーゼ 活性 (%)
加熱前	100	100
60°C30分間の 加熱後	3.1	0.3

【0352】

このように本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼは、60°Cの熱処理でも活性を失わない植物 GP 酵素であり、60°Cでの熱処理を行うことにより、アミラーゼ活性およびホスファターゼ活性をほとんど含まない、優れた GP を容易に製造することが可能であるとわかった。

【0353】

【発明の効果】

本発明によって、高温（例えば 60°C以上）での耐熱性に優れた植物由来の GP 酵素が得られた。

【0354】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼによれば、天然の GP 酵素では反応できない高温条件下（例えば 60°C以上）でのグルカン合成反応が可能である。

【0355】

本発明の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼをコードする遺伝子（例えば、馬鈴薯由来の GP を耐熱化して得られる耐熱化 GP をコードする遺伝子）を大腸菌などの中温菌を宿主として高発現させた場合、耐熱性の酵素を含む菌体抽出液を 60°Cで加熱することにより、宿主菌由来の夾雑酵素を簡単に除去できるという利点を得られる。特に GP 酵素の産業利用上大きな問題となる、アミラーゼ活性とホスファターゼ活性を、熱処理により大幅に削減できた。従って、本発明の方

法は、酵素精製において有利となる。

【0356】

本発明の方法は、馬鈴薯由来のGPのみに有効というわけではなく、馬鈴薯由来のGPのアミノ酸構造に対して高い相同性を示す他のグループAのGPの耐熱化にも好適に応用できる。従って、配列番号2のアミノ酸配列の39位フェニルアラニン(F39)に相当する位置、135位アスパラギン(N135)に相当する位置および706位トレオニン(T706)に相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸残基とは異なるアミノ酸残基を有する他の生物種由来の耐熱性GPを得ることができる。

【0357】

(配列表の説明)

配列番号1：馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列；

配列番号2：馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列；

配列番号3：サツマイモのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列；

配列番号4：サツマイモのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列；

配列番号5：馬鈴薯の第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列；

配列番号6：馬鈴薯の第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列；

配列番号7：ソラマメ (F a v a b e a n) のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列；

配列番号8：ソラマメ (F a v a b e a n) のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列；

配列番号9：シロイヌナズナ (A r a b i d o p s i s t h a l i a n a) のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列；

配列番号10：シロイヌナズナ (A r a b i d o p s i s t h a l i a n a

) のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号11: ホウレンソウのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号12: ホウレンソウのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号13: トウモロコシのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号14: トウモロコシのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号15: イネのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号16: イネのタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号17: イネの第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号18: イネの第2のタイプLの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号19: コムギのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号20: コムギのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号21: Citrus hybrid cultivarのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号22: Citrus hybrid cultivarのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号23: イネのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号24: イネのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号25: ソラマメのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号26: ソラマメのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸

配列;

配列番号 27: シロイヌナズナのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号 28: シロイヌナズナのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号 29: 馬鈴薯のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号 30: 馬鈴薯のタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号 31: サツマイモのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列の部分配列;

配列番号 32: サツマイモのタイプHの α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号 33: 耐熱化馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼの塩基配列;

配列番号 34: 耐熱化馬鈴薯タイプL α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号 35: 大腸菌のマルトデキストリンホスホリラーゼのアミノ酸配列;

配列番号 36 および 37: 図2に示す、プラスミド pMW118 との連結部付近の塩基配列;

配列番号 38: PCRプライマー1の塩基配列;

配列番号 39: PCRプライマー2の塩基配列;

配列番号 40: PCRプライマー3の塩基配列;

配列番号 41: PCRプライマー4の塩基配列。

【0358】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> EZAKI GLICO CO., LTD.

<120> Method of thermostabilization of an alpha-glucan phosphorylase

<130> J103204088

<160> 41

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 3101

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<220>

<221> CDS

<222> (44)..(2941)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (194)..(2941)

<400> 1

atcactctca ttcgaaaagc tagatttgca tagagagcac aaa atg gcg act gca 55

Met Ala Thr Ala

-50

aat gga gca cac ttg ttc aac cat tac agc tcc aat tcc aga ttc atc 103

Asn Gly Ala His Leu Phe Asn His Tyr Ser Ser Asn Ser Arg Phe Ile

-45

-40

-35

cat ttc act tct aga aac aca agc tcc aaa ttg ttc ctt acc aaa acc 151
 His Phe Thr Ser Arg Asn Thr Ser Ser Lys Leu Phe Leu Thr Lys Thr
 -30 -25 -20 -15

tcc cat ttt cgg aga ccc aaa cgc tgt ttc cat gtc aac aat acc ttg 199
 Ser His Phe Arg Arg Pro Lys Arg Cys Phe His Val Asn Asn Thr Leu
 -10 -5 -1 1

agt gag aaa att cac cat ccc att act gaa caa ggt ggt gag agc gac 247
 Ser Glu Lys Ile His His Pro Ile Thr Glu Gln Gly Gly Glu Ser Asp
 5 10 15

ctg agt tct ttt gct cct gat gcc gca tct att acc tca agt atc aaa 295
 Leu Ser Ser Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Ile Thr Ser Ser Ile Lys
 20 25 30

tac cat gca gaa ttc aca cct gta ttc tct cct gaa agg ttt gag ctc 343
 Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu Arg Phe Glu Leu
 35 40 45 50

cct aag gca ttc ttt gca aca gct caa agt gtt cgt gat tcg ctc ctt 391
 Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val Arg Asp Ser Leu Leu
 55 60 65

att aat tgg aat gct acg tat gat att tat gaa aag ctg aac atg aag 439
 Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Ile Tyr Glu Lys Leu Asn Met Lys
 70 75 80

caa gcg tac tat cta tcc atg gaa ttt ctg cag ggt aga gca ttg tta 487
Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Leu
85 90 95

aat gca att ggt aat ctg gag ctt act ggt gca ttt gcg gaa gct ttg 535
Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Ala Phe Ala Glu Ala Leu
100 105 110

aaa aac ctt ggc cac aat cta gaa aat gtg gct tct cag gaa cca gat 583
Lys Asn Leu Gly His Asn Leu Glu Asn Val Ala Ser Gln Glu Pro Asp
115 120 125 130

gct gct ctt gga aat ggg ggt ttg gga cgg ctt gct tcc tgt ttt ctg 631
Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu
135 140 145

gac tct ttg gca aca cta aac tac cca gca tgg ggc tat gga ctt agg 679
Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg
150 155 160

tac aag tat ggt tta ttt aag caa cgg att aca aaa gat ggt cag gag 727
Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu
165 170 175

gag gtg gct gaa gat tgg ctt gaa att ggc agt cca tgg gaa gtt gtg 775
Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Ile Gly Ser Pro Trp Glu Val Val
180 185 190

agg aat gat gtt tca tat cct atc aaa ttc tat gga aaa gtc tct aca 823

310	315	320	
att aag tgg gaa gag ttt cct gaa aaa gtt gct gtg cag atg aat gac			1207
Ile Lys Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp			
325	330	335	
act cac cct aca ctt tgt atc cct gag ctg atg aga ata ttg ata gat			1255
Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Ile Asp			
340	345	350	
ctg aag ggc ttg aat tgg aat gaa gct tgg aat att act caa aga act			1303
Leu Lys Gly Leu Asn Trp Asn Glu Ala Trp Asn Ile Thr Gln Arg Thr			
355	360	365	370
gtg gcc tac aca aac cat act gtt ttg cct gag gca ctg gag aaa tgg			1351
Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp			
375	380	385	
agt tat gaa ttg atg cag aaa ctc ctt ccc aga cat gtc gaa atc att			1399
Ser Tyr Glu Leu Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile			
390	395	400	
gag gcg att gac gag gag ctg gta cat gaa att gta tta aaa tat ggt			1447
Glu Ala Ile Asp Glu Glu Leu Val His Glu Ile Val Leu Lys Tyr Gly			
405	410	415	
tca atg gat ctg aac aaa ttg gag gaa aag ttg act aca atg aga atc			1495
Ser Met Asp Leu Asn Lys Leu Glu Glu Lys Leu Thr Thr Met Arg Ile			
420	425	430	

tta gaa aat ttt gat ctt ccc agt tct gtt gct gaa tta ttt att aag 1543
 Leu Glu Asn Phe Asp Leu Pro Ser Ser Val Ala Glu Leu Phe Ile Lys
 435 440 445 450

cct gaa atc tca gtt gat gat gat act gaa aca gta gaa gtc cat gac 1591
 Pro Glu Ile Ser Val Asp Asp Asp Thr Glu Thr Val Glu Val His Asp
 455 460 465

aaa gtt gaa gct tcc gat aaa gtt gtg act aat gat gaa gat gac act 1639
 Lys Val Glu Ala Ser Asp Lys Val Val Thr Asn Asp Glu Asp Asp Thr
 470 475 480

ggt aag aaa act agt gtg aag ata gaa gca gct gca gaa aaa gac att 1687
 Gly Lys Lys Thr Ser Val Lys Ile Glu Ala Ala Ala Glu Lys Asp Ile
 485 490 495

gac aag aaa act ccc gtg agt ccg gaa cca gct gtt ata cca cct aag 1735
 Asp Lys Lys Thr Pro Val Ser Pro Glu Pro Ala Val Ile Pro Pro Lys
 500 505 510

aag gta cgc atg gcc aac ttg tgt gtt gtg ggc ggc cat gct gtt aat 1783
 Lys Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His Ala Val Asn
 515 520 525 530

gga gtt gct gag atc cat agt gaa att gtg aag gag gag gtt ttc aat 1831
 Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu Glu Val Phe Asn
 535 540 545

gac ttc tat gag ctc tgg ccg gaa aag ttc caa aac aaa aca aat gga 1879
 Asp Phe Tyr Glu Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly
 550 555 560

gtg act cca aga aga tgg att cgt ttc tgc aat cct cct ctt agt gcc 1927
 Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Pro Leu Ser Ala
 565 570 575

atc ata act aag tgg act ggt aca gag gat tgg gtc ctg aaa act gaa 1975
 Ile Ile Thr Lys Trp Thr Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu Lys Thr Glu
 580 585 590

aag ttg gca gaa ttg cag aag ttt gct gat aat gaa gat ctt caa aat 2023
 Lys Leu Ala Glu Leu Gln Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Asn
 595 600 605 610

gag tgg agg gaa gca aaa agg agc aac aag att aaa gtt gtc tcc ttt 2071
 Glu Trp Arg Glu Ala Lys Arg Ser Asn Lys Ile Lys Val Val Ser Phe
 615 620 625

ctc aaa gaa aag aca ggg tat tct gtt gtc cca gat gca atg ttt gat 2119
 Leu Lys Glu Lys Thr Gly Tyr Ser Val Val Pro Asp Ala Met Phe Asp
 630 635 640

att cag gta aaa cgc att cat gag tac aag cga caa ctg tta aat atc 2167
 Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile
 645 650 655

ttc ggc atc gtt tat cgg tat aag aag atg aaa gaa atg aca gct gca 2215

Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Thr Ala Ala
 660 665 670

gaa aga aag act aac ttc gtt cct cga gta tgc ata ttt ggg gga aaa 2263
 Glu Arg Lys Thr Asn Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys
 675 680 685 690

gct ttt gcc aca tat gtg caa gcc aag agg att gta aaa ttt atc aca 2311
 Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr
 695 700 705

gat gtt ggt gct act ata aat cat gat cca gaa atc ggt gat ctg ttg 2359
 Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu
 710 715 720

aag gta gtc ttt gtg cca gat tac aat gtc agt gtt gct gaa ttg cta 2407
 Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Leu Leu
 725 730 735

att cct gct agc gat cta tca gaa cat atc agt acg gct gga atg gag 2455
 Ile Pro Ala Ser Asp Leu Ser Glu His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu
 740 745 750

gcc agt gga acc agt aat atg aag ttt gca atg aat ggt tgt atc caa 2503
 Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Ile Gln
 755 760 765 770

att ggt aca ttg gat ggc gct aat gtt gaa ata agg gaa gag gtt gga 2551
 Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly

775	780	785	
gaa gaa aac ttc ttt ctc ttt ggt gct caa gct cat gaa att gca ggg			2599
Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His Glu Ile Ala Gly			
790	795	800	
ctt aga aaa gaa aga gct gac gga aag ttt gta cct gat gaa cgt ttt			2647
Leu Arg Lys Glu Arg Ala Asp Gly Lys Phe Val Pro Asp Glu Arg Phe			
805	810	815	
gaa gag gtg aag gaa ttt gtt aga agc ggt gct ttt ggc tct tat aac			2695
Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Ala Phe Gly Ser Tyr Asn			
820	825	830	
tat gat gac cta att gga tcg ttg gaa gga aat gaa ggt ttt ggc cgt			2743
Tyr Asp Asp Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg			
835	840	845	850
gct gac tat ttc ctt gtg ggc aag gac ttc ccc agt tac ata gaa tgc			2791
Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys			
855	860	865	
caa gag aaa gtt gat gag gca tat cgc gac cag aaa agg tgg aca acg			2839
Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Arg Trp Thr Thr			
870	875	880	
atg tca atc ttg aat aca gcg gga tcg tac aag ttc agc agt gac aga			2887
Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Lys Phe Ser Ser Asp Arg			
885	890	895	

aca atc cat gaa tat gcc aaa gac att tgg aac att gaa gct gtg gaa 2935
 Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Glu Ala Val Glu
 900 905 910

ata gca taagaggggg aagtgaatga aaaataacaa aggcacagta agtagtttct 2991
 Ile Ala
 915

ctttttatca tgtgatgaag gtatataatg tatgtgtaag aggatgatgt tattaccaca 3051

taataagaga tgaagagtct cattttgctt caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3101

<210> 2

<211> 966

<212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 2

Met Ala Thr Ala Asn Gly Ala His Leu Phe Asn His Tyr Ser Ser Asn
 -50 -45 -40 -35

Ser Arg Phe Ile His Phe Thr Ser Arg Asn Thr Ser Ser Lys Leu Phe
 -30 -25 -20

Leu Thr Lys Thr Ser His Phe Arg Arg Pro Lys Arg Cys Phe His Val
-15 -10 -5

Asn Asn Thr Leu Ser Glu Lys Ile His His Pro Ile Thr Glu Gln Gly
-1 1 5 10

Gly Glu Ser Asp Leu Ser Ser Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Ile Thr
15 20 25 30

Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu
35 40 45

Arg Phe Glu Leu Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val Arg
50 55 60

Asp Ser Leu Leu Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Ile Tyr Glu Lys
65 70 75

Leu Asn Met Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly
80 85 90

Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Ala Phe

95 100 105 110

Ala Glu Ala Leu Lys Asn Leu Gly His Asn Leu Glu Asn Val Ala Ser
 115 120 125

Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala
 130 135 140

Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly
 145 150 155

Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr Lys
 160 165 170

Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Ile Gly Ser Pro
175 180 185 190

Trp Glu Val Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Ile Lys Phe Tyr Gly
 195 200 205

Lys Val Ser Thr Gly Ser Asp Gly Lys Arg Tyr Trp Ile Gly Gly Glu
 210 215 220

Asp Ile Lys Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr
225 230 235

Arg Thr Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Ser Thr Gln Val Pro Ser Ala
240 245 250

Asp Phe Asp Leu Ser Ala Phe Asn Ala Gly Glu His Thr Lys Ala Cys
255 260 265 270

Glu Ala Gln Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr Pro Gly
275 280 285

Asp Glu Ser Glu Glu Gly Lys Ile Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr
290 295 300

Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe Glu Arg Arg
305 310 315

Ser Gly Asp Arg Ile Lys Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val
320 325 330

Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg
335 340 345 350

Ile Leu Ile Asp Leu Lys Gly Leu Asn Trp Asn Glu Ala Trp Asn Ile
355 360 365

Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala
370 375 380

Leu Glu Lys Trp Ser Tyr Glu Leu Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His
385 390 395

Val Glu Ile Ile Glu Ala Ile Asp Glu Glu Leu Val His Glu Ile Val
400 405 410

Leu Lys Tyr Gly Ser Met Asp Leu Asn Lys Leu Glu Glu Lys Leu Thr
415 420 425 430

Thr Met Arg Ile Leu Glu Asn Phe Asp Leu Pro Ser Ser Val Ala Glu
435 440 445

Leu Phe Ile Lys Pro Glu Ile Ser Val Asp Asp Asp Thr Glu Thr Val
450 455 460

Glu Val His Asp Lys Val Glu Ala Ser Asp Lys Val Val Thr Asn Asp
465 470 475

Glu Asp Asp Thr Gly Lys Lys Thr Ser Val Lys Ile Glu Ala Ala Ala
480 485 490

Glu Lys Asp Ile Asp Lys Lys Thr Pro Val Ser Pro Glu Pro Ala Val
495 500 505 510

Ile Pro Pro Lys Lys Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly
515 520 525

His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu
530 535 540

Glu Val Phe Asn Asp Phe Tyr Glu Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn
545 550 555

Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro

560

565

570

Pro Leu Ser Ala Ile Ile Thr Lys Trp Thr Gly Thr Glu Asp Trp Val
575 580 585 590

Leu Lys Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Gln Lys Phe Ala Asp Asn Glu
595 600 605

Asp Leu Gln Asn Glu Trp Arg Glu Ala Lys Arg Ser Asn Lys Ile Lys
610 615 620

Val Val Ser Phe Leu Lys Glu Lys Thr Gly Tyr Ser Val Val Pro Asp
625 630 635

Ala Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln
640 645 650

Leu Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu
655 660 665 670

Met Thr Ala Ala Glu Arg Lys Thr Asn Phe Val Pro Arg Val Cys Ile
675 680 685

Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val
690 695 700

Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile
705 710 715

Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val
720 725 730

Ala Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Asp Leu Ser Glu His Ile Ser Thr
735 740 745 750

Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn
755 760 765

Gly Cys Ile Gln Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg
770 775 780

Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His
785 790 795

Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Asp Gly Lys Phe Val Pro
800 805 810

Asp Glu Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Ala Phe
815 820 825 830

Gly Ser Tyr Asn Tyr Asp Asp Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu
835 840 845

Gly Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser
850 855 860

Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys
865 870 875

Arg Trp Thr Thr Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Lys Phe
880 885 890

Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile
895 900 905 910

Glu Ala Val Glu Ile Ala

915

<210> 3

<211> 3292

<212> DNA

<213> Ipomoea batatas

<220>

<221> CDS

<222> (86)..(2950)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (215)..(2950)

<400> 3

gaattccgct tagctaatat cgcaccgata gagagagacc gacagagagc aatggcagct 60

tcaccgtact ccgtttctcg gagca atg tcg agg ctt tcc ggc att acg cct 112

Met Ser Arg Leu Ser Gly Ile Thr Pro

-40

-35

cga gct cga gat gat cga tct caa ttc cag aat ccg agg ctc gaa att 160

Arg Ala Arg Asp Asp Arg Ser Gln Phe Gln Asn Pro Arg Leu Glu Ile

-30

-25

-20

gcg gtt cct gac cga acg gcc ggc tta cag aga acg aaa cgg act ctc	208
Ala Val Pro Asp Arg Thr Ala Gly Leu Gln Arg Thr Lys Arg Thr Leu	
-15 -10 -5	
ctt gtc aag tgc gtg ttg gat gag acg aaa caa acg att cag cat gtg	256
Leu Val Lys Cys Val Leu Asp Glu Thr Lys Gln Thr Ile Gln His Val	
-1 1 5 10	
gtt act gaa aaa aat gaa ggt acc tta ctt gat gct gca tct att gct	304
Val Thr Glu Lys Asn Glu Gly Thr Leu Leu Asp Ala Ala Ser Ile Ala	
15 20 25 30	
tca agc atc aaa tac cat gca gaa ttc tca cca gca ttt tct ccc gag	352
Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Ser Pro Ala Phe Ser Pro Glu	
35 40 45	
agg ttt gag ctt cca aag gct tac ttt gca aca gca caa agt gtt cgt	400
Arg Phe Glu Leu Pro Lys Ala Tyr Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val Arg	
50 55 60	
gat gca ctg att gtc aat tgg aat gca aca tac gat tac tat gag aag	448
Asp Ala Leu Ile Val Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr Glu Lys	
65 70 75	
ttg aat atg aag cag gca tac tat ctc tct atg gag ttt cta cag ggt	496
Leu Asn Met Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly	
80 85 90	
aga gca ttg tta aat gca att ggt aat ctg gag ctt act ggt gaa tat	544

出証特 2 0 0 4 - 3 0 6 6 8 9 2

210	215	220	
gac att ctg gca gtt gca tac gat gtt cca att cca gga tat aag act			928
Asp Ile Leu Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr			
225	230	235	
aga acc aca att agc ctt cgc cta tgg tct act aag gtt cca tcc gag			976
Arg Thr Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Ser Thr Lys Val Pro Ser Glu			
240	245	250	
gat ttt gat cta tat tct ttc aat gca gga gag cac acc aaa gcg tgt			1024
Asp Phe Asp Leu Tyr Ser Phe Asn Ala Gly Glu His Thr Lys Ala Cys			
255	260	265	270
gag gcc caa gca aat gct gaa aaa ata tgt tac ata ctc tac cct ggg			1072
Glu Ala Gln Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr Pro Gly			
275	280	285	
gat gaa tca att gaa gga aaa att tta cga ctg aag caa caa tac acc			1120
Asp Glu Ser Ile Glu Gly Lys Ile Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr			
290	295	300	
ttg tgc tct gct tct cta caa gat ata att gcc cga ttt gag agg aga			1168
Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg			
305	310	315	
tct ggt gaa tat gtt aaa tgg gag gag ttt cct gaa aaa gtt gct gtc			1216
Ser Gly Glu Tyr Val Lys Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val			
320	325	330	

出証特 2 0 0 4 - 3 0 6 6 8 9 2

ttg ttt acc aaa cca aag gaa act tct att gtt gat cct agt gaa gaa	1600
Leu Phe Thr Lys Pro Lys Glu Thr Ser Ile Val Asp Pro Ser Glu Glu	
450 455 460	
gtt gaa gtt tct ggt aaa gtg gtg act gag agt gtt gaa gtt tct gat	1648
Val Glu Val Ser Gly Lys Val Val Thr Glu Ser Val Glu Val Ser Asp	
465 470 475	
aaa gtg gtg act gag agt gaa aaa gat gaa ctt gaa gaa aaa gac aca	1696
Lys Val Val Thr Glu Ser Glu Lys Asp Glu Leu Glu Glu Lys Asp Thr	
480 485 490	
gaa ctg gag aaa gat gag gac cca gta cca gct cct ata cca ccc aag	1744
Glu Leu Glu Lys Asp Glu Asp Pro Val Pro Ala Pro Ile Pro Pro Lys	
495 500 505 510	
atg gtc cgc atg gct aat ctc tgc gtt gtt ggt ggt cat gct gta aat	1792
Met Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His Ala Val Asn	
515 520 525	
gga gtt gcc gag att cat agt gat ata gtg aag gaa gat gtt ttt aat	1840
Gly Val Ala Glu Ile His Ser Asp Ile Val Lys Glu Asp Val Phe Asn	
530 535 540	
gac ttt tac cag ctt tgg cct gag aaa ttt caa aac aaa aca aat ggt	1888
Asp Phe Tyr Gln Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly	
545 550 555	
gtg aca cca aga aga tgg atc cga ttt tgt aat cct gct cta agt aat	1936

Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Ala Leu Ser Asn
 560 565 570

atc att act aag tgg att ggt aca gag gac tgg gtc cta aac aca gaa 1984
 Ile Ile Thr Lys Trp Ile Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu
 575 580 585 590

aag ttg gca gaa ctg cgc aag ttt gca gat aat gaa gat ctt caa ata 2032
 Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Ile
 595 600 605

gag tgg agg gct gca aaa aga agc aac aaa gtt aag gtt gcc tca ttc 2080
 Glu Trp Arg Ala Ala Lys Arg Ser Asn Lys Val Lys Val Ala Ser Phe
 610 615 620

cta aaa gaa agg aca ggg tat tcg gtc agc ccc aat gca atg ttt gat 2128
 Leu Lys Glu Arg Thr Gly Tyr Ser Val Ser Pro Asn Ala Met Phe Asp
 625 630 635

atc cag gta aaa cga att cat gaa tac aag cgc caa ctc ttg aat atc 2176
 Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile
 640 645 650

ttg gga att gtt tat cgc tac aag cag atg aaa gaa atg agc gca cga 2224
 Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Gln Met Lys Glu Met Ser Ala Arg
 655 660 665 670

gaa aga gaa gct aag ttt gtt cct cga gta tgc ata ttt gga gga aaa 2272
 Glu Arg Glu Ala Lys Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys

675	680	685	
gct ttt gct aca tat gtt caa gct aaa agg atc gca aaa ttc ata aca			2320
Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Ala Lys Phe Ile Thr			
690	695	700	
gat gtt gga gcc acc ata aac cat gat cct gag ata ggt gat ttg ttg			2368
Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu			
705	710	715	
aag gtt att ttt gtc cca gat tac aat gtc agt gct gca gaa ctg ctg			2416
Lys Val Ile Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Ala Ala Glu Leu Leu			
720	725	730	
att cca gct agt gga ctt tca caa cat atc agt act gcc gga atg gag			2464
Ile Pro Ala Ser Gly Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu			
735	740	745	750
gcc agt gga caa agc aat atg aaa ttt gcc atg aat ggt tgc atc tta			2512
Ala Ser Gly Gln Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Ile Leu			
755	760	765	
att ggg acc ttg gat gga gcc aat gtt gag ata agg caa gag gtt gga			2560
Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Gln Glu Val Gly			
770	775	780	
gag gaa aac ttc ttt ctc ttt ggg gct gaa gct cat gag att gca ggg			2608
Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala His Glu Ile Ala Gly			
785	790	795	

ctt cgg aaa gaa aga gct gag gga aag ttt gta cca gat gaa cgt ttt	2656
Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val Pro Asp Glu Arg Phe	
800 805 810	
gag gaa gtc aag gaa ttc ata aag cgt ggt gtt ttt ggc tcc aat acc	2704
Glu Glu Val Lys Glu Phe Ile Lys Arg Gly Val Phe Gly Ser Asn Thr	
815 820 825 830	
tat gat gag ctt ctt gga tct ttg gag gga aat gaa ggc ttt ggt cgt	2752
Tyr Asp Glu Leu Leu Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg	
835 840 845	
gga gac tat ttc ctt gtg ggc aag gac ttc cct agt tac ata gaa tgc	2800
Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys	
850 855 860	
caa gag aag gtt gat gag gca tat cga gac caa aag ata tgg act aga	2848
Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Ile Trp Thr Arg	
865 870 875	
atg tca atc ttg aac aca gcc gga agt tac aaa ttc agc agt gat aga	2896
Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Lys Phe Ser Ser Asp Arg	
880 885 890	
aca att cat gaa tat gcc aag gac ata tgg aac atc cag cca gtt gtg	2944
Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Gln Pro Val Val	
895 900 905 910	

ttt ccc tagaaattaa agaatgaacc aattttctga gcagcagtaa taaaatgtcg 3000
Phe Pro

tcttaggtcc tatgttcttg tttatgtaca tgtaggtgca agatcctgtg atgatctaata 3060

aaatcttgct tccttctatt atgcagatcc ttttataagg gtcattgtact tctgatcatc 3120

cttaataatc aatatttttag tttcacatcg gacataagaa gttgattgca gtaagaaatc 3180

atgagttttt actactgtaa attctacaac ttggaataca aggatgacta ttccagaggc 3240

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 3292

<210> 4

<211> 955

<212> PRT

<213> Ipomoea batatas

<400> 4

Met Ser Arg Leu Ser Gly Ile Thr Pro Arg Ala Arg Asp Asp Arg Ser
-40 -35 -30

Gln Phe Gln Asn Pro Arg Leu Glu Ile Ala Val Pro Asp Arg Thr Ala
-25 -20 -15

Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Glu Tyr Ala Glu Ala Leu Asn Lys Leu
105 110 115

Gly His Asn Leu Glu Asn Val Ala Ser Lys Glu Pro Asp Ala Ala Leu
120 125 130

Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu
135 140 145

Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr
150 155 160 165

Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala
170 175 180

Glu Asp Trp Leu Glu Leu Gly Asn Pro Trp Glu Ile Ile Arg Met Asp
185 190 195

Val Ser Tyr Pro Val Lys Phe Phe Gly Lys Val Ile Thr Gly Ser Asp
200 205 210

Gly Lys Lys His Trp Ile Gly Gly Glu Asp Ile Leu Ala Val Ala Tyr

215

220

225

Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Arg Thr Thr Ile Ser Leu Arg
230 235 240 245

Leu Trp Ser Thr Lys Val Pro Ser Glu Asp Phe Asp Leu Tyr Ser Phe
250 255 260

Asn Ala Gly Glu His Thr Lys Ala Cys Glu Ala Gln Ala Asn Ala Glu
265 270 275

Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Ile Glu Gly Lys
280 285 290

Ile Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln
295 300 305

Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg Ser Gly Glu Tyr Val Lys Trp
310 315 320 325

Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro
330 335 340

Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Ile Arg Ile Leu Ile Asp Leu Lys Gly
345 350 355

Leu Ser Trp Lys Glu Ala Trp Asn Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr
360 365 370

Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Tyr Glu
375 380 385

Leu Met Glu Lys Leu Leu Pro Arg His Ile Glu Ile Ile Glu Met Ile
390 395 400 405

Asp Glu Gln Leu Ile Asn Glu Ile Val Ser Glu Tyr Gly Thr Ser Asp
410 415 420

Leu Asp Met Leu Glu Lys Lys Leu Asn Asp Met Arg Ile Leu Glu Asn
425 430 435

Phe Asp Ile Pro Ser Ser Ile Ala Asn Leu Phe Thr Lys Pro Lys Glu
440 445 450

Thr Ser Ile Val Asp Pro Ser Glu Glu Val Glu Val Ser Gly Lys Val
455 460 465

Val Thr Glu Ser Val Glu Val Ser Asp Lys Val Val Thr Glu Ser Glu
470 475 480 485

Lys Asp Glu Leu Glu Glu Lys Asp Thr Glu Leu Glu Lys Asp Glu Asp
490 495 500

Pro Val Pro Ala Pro Ile Pro Pro Lys Met Val Arg Met Ala Asn Leu
505 510 515

Cys Val Val Gly Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser
520 525 530

Asp Ile Val Lys Glu Asp Val Phe Asn Asp Phe Tyr Gln Leu Trp Pro
535 540 545

Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile
550 555 560 565

Arg Phe Cys Asn Pro Ala Leu Ser Asn Ile Ile Thr Lys Trp Ile Gly
570 575 580

Thr Glu Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys
585 590 595

Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Ile Glu Trp Arg Ala Ala Lys Arg
600 605 610

Ser Asn Lys Val Lys Val Ala Ser Phe Leu Lys Glu Arg Thr Gly Tyr
615 620 625

Ser Val Ser Pro Asn Ala Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His
630 635 640 645

Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr
650 655 660

Lys Gln Met Lys Glu Met Ser Ala Arg Glu Arg Glu Ala Lys Phe Val
665 670 675

Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln

680

685

690

Ala Lys Arg Ile Ala Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn
695 700 705

His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Ile Phe Val Pro Asp
710 715 720 725

Tyr Asn Val Ser Ala Ala Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Gly Leu Ser
730 735 740

Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Gln Ser Asn Met
745 750 755

Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala
760 765 770

Asn Val Glu Ile Arg Gln Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe
775 780 785

Gly Ala Glu Ala His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu
790 795 800 805

Gly Lys Phe Val Pro Asp Glu Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Ile
810 815 820

Lys Arg Gly Val Phe Gly Ser Asn Thr Tyr Asp Glu Leu Leu Gly Ser
825 830 835

Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly
840 845 850

Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala
855 860 865

Tyr Arg Asp Gln Lys Ile Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala
870 875 880 885

Gly Ser Tyr Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys
890 895 900

Asp Ile Trp Asn Ile Gln Pro Val Val Phe Pro
905 910

<210> 5
 <211> 3171
 <212> DNA
 <213> Solanum tuberosum

<220>
 <221> CDS
 <222> (87)..(3008)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (330)..(3008)

<400> 5
 tttttttttt caacatgcac aacaattatt ttgattaaat tttgtatcta aaaatttagc 60

attttgaaat tcagttcaga gacatc atg gca act ttt gct gtc tct gga ttg 113
 Met Ala Thr Phe Ala Val Ser Gly Leu
 -80 -75

aac tca att tca agt att tct agt ttt aat aac aat ttc aga agc aaa 161
 Asn Ser Ile Ser Ser Ile Ser Ser Phe Asn Asn Asn Phe Arg Ser Lys
 -70 -65 -60

aac tca aac att ttg ttg agt aga agg agg att tta ttg ttc agt ttt 209
 Asn Ser Asn Ile Leu Leu Ser Arg Arg Arg Ile Leu Leu Phe Ser Phe
 -55 -50 -45

aga aga aga aga aga agt ttc tct gtt agc agt gtt gct agt gat caa 257
 Arg Arg Arg Arg Arg Ser Phe Ser Val Ser Ser Val Ala Ser Asp Gln
 -40 -35 -30 -25

aag cag aag aca aag gat tct tcc tct gat gaa gga ttt aca tta gat 305
 Lys Gln Lys Thr Lys Asp Ser Ser Ser Asp Glu Gly Phe Thr Leu Asp
 -20 -15 -10

gtt ttt cag ccg gac tcc acg tct gtt tta tca agt ata aag tat cac 353
 Val Phe Gln Pro Asp Ser Thr Ser Val Leu Ser Ser Ile Lys Tyr His
 -5 -1 1 5

gct gag ttc aca cca tca ttt tct cct gag aag ttt gaa ctt ccc aag 401
 Ala Glu Phe Thr Pro Ser Phe Ser Pro Glu Lys Phe Glu Leu Pro Lys
 10 15 20

gca tac tat gca act gca gag agt gtt cga gat acg ctc att ata aat 449
 Ala Tyr Tyr Ala Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp Thr Leu Ile Ile Asn
 25 30 35 40

tgg aat gcc aca tac gaa ttc tat gaa aag atg aat gta aag cag gca 497
 Trp Asn Ala Thr Tyr Glu Phe Tyr Glu Lys Met Asn Val Lys Gln Ala
 45 50 55

tat tac ttg tct atg gaa ttt ctt cag gga aga gct tta ctc aat gct 545
 Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala
 60 65 70

att ggt aac ttg ggg cta acc gga cct tat gca gat gct tta act aag 593

Ile Gly Asn Leu Gly Leu Thr Gly Pro Tyr Ala Asp Ala Leu Thr Lys

75

80

85

ctc gga tac agt tta gag gat gta gcc agg cag gaa ccg gat gca gct 641

Leu Gly Tyr Ser Leu Glu Asp Val Ala Arg Gln Glu Pro Asp Ala Ala

90

95

100

tta ggt aat gga ggt tta gga aga ctt gct tct tgc ttt ctg gac tca 689

Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser

105

110

115

120

atg gcg aca cta aac tac cct gca tgg ggc tat gga ctt aga tac caa 737

Met Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Gln

125

130

135

tat ggc ctt ttc aaa cag ctt att aca aaa gat gga cag gag gaa gtt 785

Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Leu Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val

140

145

150

gct gaa aat tgg ctc gag atg gga aat cca tgg gaa att gtg agg aat 833

Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met Gly Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn

155

160

165

gat att tcg tat ccc gta aaa ttc tat ggg aag gtc att gaa gga gct 881

Asp Ile Ser Tyr Pro Val Lys Phe Tyr Gly Lys Val Ile Glu Gly Ala

170

175

180

gat ggg agg aag gaa tgg gct ggc gga gaa gat ata act gct gtt gcc 929

Asp Gly Arg Lys Glu Trp Ala Gly Gly Glu Asp Ile Thr Ala Val Ala	
185 190 195 200	
tat gat gtc cca ata cca gga tat aaa aca aaa aca acg att aac ctt	977
Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu	
205 210 215	
cga ttg tgg aca aca aag cta gct gca gaa gct ttt gat tta tat gct	1025
Arg Leu Trp Thr Thr Lys Leu Ala Ala Glu Ala Phe Asp Leu Tyr Ala	
220 225 230	
ttt aac aat gga gac cat gcc aaa gca tat gag gcc cag aaa aag gct	1073
Phe Asn Asn Gly Asp His Ala Lys Ala Tyr Glu Ala Gln Lys Lys Ala	
235 240 245	
gaa aag att tgc tat gtc tta tat cca ggt gac gaa tcg ctt gaa gga	1121
Glu Lys Ile Cys Tyr Val Leu Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Leu Glu Gly	
250 255 260	
aag acg ctt agg tta aag cag caa tac aca cta tgt tct gct tct ctt	1169
Lys Thr Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu	
265 270 275 280	
cag gac att att gca cgg ttc gag aag aga tca ggg aat gca gta aac	1217
Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu Lys Arg Ser Gly Asn Ala Val Asn	
285 290 295	
tgg gat cag ttc ccc gaa aag gtt gca gta cag atg aat gac act cat	1265
Trp Asp Gln Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His	

300	305	310	
cca aca ctt tgt ata cca gaa ctt tta agg ata ttg atg gat gtt aaa			1313
Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Leu Arg Ile Leu Met Asp Val Lys			
315	320	325	
ggt ttg agc tgg aag cag gca tgg gaa att act caa aga acg gtc gca			1361
Gly Leu Ser Trp Lys Gln Ala Trp Glu Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala			
330	335	340	
tac act aac cac act gtt cta cct gag gct ctt gag aaa tgg agc ttc			1409
Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Phe			
345	350	355	360
aca ctt ctt ggt gaa ctg ctt cct cgg cac gtg gag atc ata gca atg			1457
Thr Leu Leu Gly Glu Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Ala Met			
365	370	375	
ata gat gag gag ctc ttg cat act ata ctt gct gaa tat ggt act gaa			1505
Ile Asp Glu Glu Leu Leu His Thr Ile Leu Ala Glu Tyr Gly Thr Glu			
380	385	390	
gat ctt gac ttg ttg caa gaa aag cta aac caa atg agg att ctg gat			1553
Asp Leu Asp Leu Leu Gln Glu Lys Leu Asn Gln Met Arg Ile Leu Asp			
395	400	405	
aat gtt gaa ata cca agt tct gtt ttg gag ttg ctt ata aaa gcc gaa			1601
Asn Val Glu Ile Pro Ser Ser Val Leu Glu Leu Leu Ile Lys Ala Glu			
410	415	420	

gaa agt gct gct gat gtc gaa aag gca gca gat gaa gaa caa gaa gaa	1649
Glu Ser Ala Ala Asp Val Glu Lys Ala Ala Asp Glu Glu Gln Glu Glu	
425 430 435 440	
gaa ggt aag gat gac agt aaa gat gag gaa act gag gct gta aag gca	1697
Glu Gly Lys Asp Asp Ser Lys Asp Glu Glu Thr Glu Ala Val Lys Ala	
445 450 455	
gaa act acg aac gaa gag gag gaa act gag gtt aag aag gtt gag gtg	1745
Glu Thr Thr Asn Glu Glu Glu Glu Thr Glu Val Lys Lys Val Glu Val	
460 465 470	
gag gat agt caa gca aaa ata aaa cgt ata ttc ggg cca cat cca aat	1793
Glu Asp Ser Gln Ala Lys Ile Lys Arg Ile Phe Gly Pro His Pro Asn	
475 480 485	
aaa cca cag gtg gtt cac atg gca aat cta tgt gta gtt agc ggg cat	1841
Lys Pro Gln Val Val His Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ser Gly His	
490 495 500	
gca gtt aac ggt gtt gct gag att cat agt gaa ata gtt aag gat gaa	1889
Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Asp Glu	
505 510 515 520	
gtt ttc aat gaa ttt tac aag tta tgg cca gag aaa ttc caa aac aag	1937
Val Phe Asn Glu Phe Tyr Lys Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys	
525 530 535	

aca aat ggt gtg aca cca aga aga tgg cta agt ttc tgt aat cca gag 1985
Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Leu Ser Phe Cys Asn Pro Glu
540 545 550

ttg agt gaa att ata acc aag tgg aca gga tct gat gat tgg tta gta 2033
Leu Ser Glu Ile Ile Thr Lys Trp Thr Gly Ser Asp Asp Trp Leu Val
555 560 565

aac act gaa aaa ttg gca gag ctt cga aag ttt gct gat aac gaa gaa 2081
Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asn Glu Glu
570 575 580

ctc cag tct gag tgg agg aag gca aaa gga aat aac aaa atg aag att 2129
Leu Gln Ser Glu Trp Arg Lys Ala Lys Gly Asn Asn Lys Met Lys Ile
585 590 595 600

gtc tct ctc att aaa gaa aaa aca gga tac gtg gtc agt ccc gat gca 2177
Val Ser Leu Ile Lys Glu Lys Thr Gly Tyr Val Val Ser Pro Asp Ala
605 610 615

atg ttt gat gtt cag atc aag cgc atc cat gag tat aaa agg cag cta 2225
Met Phe Asp Val Gln Ile Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu
620 625 630

tta aat ata ttt gga atc gtt tat cgc tat aag aag atg aaa gaa atg 2273
Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met
635 640 645

agc cct gaa gaa cga aaa gaa aag ttt gtc cct cga gtt tgc ata ttt 2321

Ser Pro Glu Glu Arg Lys Glu Lys Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe
 650 655 660

gga gga aaa gca ttt gct aca tat gtt cag gcc aag aga att gta aaa 2369
 Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys
 665 670 675 680

ttt atc act gat gta ggg gaa aca gtc aac cat gat ccc gag att ggt 2417
 Phe Ile Thr Asp Val Gly Glu Thr Val Asn His Asp Pro Glu Ile Gly
 685 690 695

gat ctt ttg aag gtt gta ttt gtt cct gat tac aat gtc agt gta gca 2465
 Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala
 700 705 710

gaa gtg cta att cct ggt agt gag ttg tcc cag cat att agt act gct 2513
 Glu Val Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala
 715 720 725

ggt atg gag gct agt gga acc agc aac atg aaa ttt tca atg aat ggc 2561
 Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Met Asn Gly
 730 735 740

tgc ctc ctc atc ggg aca tta gat ggt gcc aat gtt gag ata aga gag 2609
 Cys Leu Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu
 745 750 755 760

gaa gtt gga gag gac aat ttc ttt ctt ttc gga gct cag gct cat gaa 2657
 Glu Val Gly Glu Asp Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His Glu

765	770	775	
att gct ggc cta cga aag gaa aga gcc gag gga aag ttt gtc ccg gac			2705
Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val Pro Asp			
780	785	790	
cca aga ttt gaa gaa gta aag gcg ttc att agg aca ggc gtc ttt ggc			2753
Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Ala Phe Ile Arg Thr Gly Val Phe Gly			
795	800	805	
acc tac aac tat gaa gaa ctc atg gga tcc ttg gaa gga aac gaa ggc			2801
Thr Tyr Asn Tyr Glu Glu Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly			
810	815	820	
tat ggt cgt gct gac tat ttt ctt gta gga aag gat ttc ccc gat tat			2849
Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Asp Tyr			
825	830	835	840
ata gag tgc caa gat aaa gtt gat gaa gca tat cga gac cag aag aaa			2897
Ile Glu Cys Gln Asp Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Lys			
845	850	855	
tgg acc aaa atg tcg atc tta aac aca gct gga tcg ttc aaa ttt agc			2945
Trp Thr Lys Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Phe Lys Phe Ser			
860	865	870	
agt gat cga aca att cat caa tat gca aga gat ata tgg aga att gaa			2993
Ser Asp Arg Thr Ile His Gln Tyr Ala Arg Asp Ile Trp Arg Ile Glu			
875	880	885	

cct gtt gaa tta cct taaaagttag ccagttaaag gatgaaagcc aattttttcc 3048

Pro Val Glu Leu Pro

890

ccctgaggtt ctcccatact gtttattagt acatatattg tcaattgttg ctactgaaat 3108

gatagaagtt ttgaatattt actgtcaata aaatacagtt gattccattt gaaaaaaaaa 3168

aaa 3171

<210> 6

<211> 974

<212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 6

Met Ala Thr Phe Ala Val Ser Gly Leu Asn Ser Ile Ser Ser Ile Ser

-80

-75

-70

Ser Phe Asn Asn Asn Phe Arg Ser Lys Asn Ser Asn Ile Leu Leu Ser

-65

-60

-55

-50

Arg Arg Arg Ile Leu Leu Phe Ser Phe Arg Arg Arg Arg Ser Phe

-45

-40

-35

Ser Val Ser Ser Val Ala Ser Asp Gln Lys Gln Lys Thr Lys Asp Ser
 -30 -25 -20

Ser Ser Asp Glu Gly Phe Thr Leu Asp Val Phe Gln Pro Asp Ser Thr
 -15 -10 -5

Ser Val Leu Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Ser Phe
 -1 1 5 10 15

Ser Pro Glu Lys Phe Glu Leu Pro Lys Ala Tyr Tyr Ala Thr Ala Glu
 20 25 30

Ser Val Arg Asp Thr Leu Ile Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Glu Phe
 35 40 45

Tyr Glu Lys Met Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe
 50 55 60

Leu Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Gly Leu Thr
 65 70 75

Gly Pro Tyr Ala Asp Ala Leu Thr Lys Leu Gly Tyr Ser Leu Glu Asp
80 85 90 95

Val Ala Arg Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly
100 105 110

Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Tyr Pro
115 120 125

Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Gln Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Leu
130 135 140

Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met
145 150 155

Gly Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn Asp Ile Ser Tyr Pro Val Lys
160 165 170 175

Phe Tyr Gly Lys Val Ile Glu Gly Ala Asp Gly Arg Lys Glu Trp Ala
180 185 190

Gly Gly Glu Asp Ile Thr Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly
195 200 205

Tyr Lys Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Thr Thr Lys Leu
210 215 220

Ala Ala Glu Ala Phe Asp Leu Tyr Ala Phe Asn Asn Gly Asp His Ala
225 230 235

Lys Ala Tyr Glu Ala Gln Lys Lys Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Val Leu
240 245 250 255

Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Leu Glu Gly Lys Thr Leu Arg Leu Lys Gln
260 265 270

Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe
275 280 285

Glu Lys Arg Ser Gly Asn Ala Val Asn Trp Asp Gln Phe Pro Glu Lys
290 295 300

Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu

305

310

315

Leu Leu Arg Ile Leu Met Asp Val Lys Gly Leu Ser Trp Lys Gln Ala
320 325 330 335

Trp Glu Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu
340 345 350

Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Phe Thr Leu Leu Gly Glu Leu Leu
355 360 365

Pro Arg His Val Glu Ile Ile Ala Met Ile Asp Glu Glu Leu Leu His
370 375 380

Thr Ile Leu Ala Glu Tyr Gly Thr Glu Asp Leu Asp Leu Leu Gln Glu
385 390 395

Lys Leu Asn Gln Met Arg Ile Leu Asp Asn Val Glu Ile Pro Ser Ser
400 405 410 415

Val Leu Glu Leu Leu Ile Lys Ala Glu Glu Ser Ala Ala Asp Val Glu
420 425 430

Lys Ala Ala Asp Glu Glu Gln Glu Glu Glu Gly Lys Asp Asp Ser Lys

435

440

445

Asp Glu Glu Thr Glu Ala Val Lys Ala Glu Thr Thr Asn Glu Glu Glu

450

455

460

Glu Thr Glu Val Lys Lys Val Glu Val Glu Asp Ser Gln Ala Lys Ile

465

470

475

Lys Arg Ile Phe Gly Pro His Pro Asn Lys Pro Gln Val Val His Met

480

485

490

495

Ala Asn Leu Cys Val Val Ser Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu

500

505

510

Ile His Ser Glu Ile Val Lys Asp Glu Val Phe Asn Glu Phe Tyr Lys

515

520

525

Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg

530

535

540

Arg Trp Leu Ser Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Glu Ile Ile Thr Lys
545 550 555

Trp Thr Gly Ser Asp Asp Trp Leu Val Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu
560 565 570 575

Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asn Glu Glu Leu Gln Ser Glu Trp Arg Lys
580 585 590

Ala Lys Gly Asn Asn Lys Met Lys Ile Val Ser Leu Ile Lys Glu Lys
595 600 605

Thr Gly Tyr Val Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp Val Gln Ile Lys
610 615 620

Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val
625 630 635

Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Pro Glu Glu Arg Lys Glu
640 645 650 655

Lys Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr
660 665 670

Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Glu
675 680 685

Thr Val Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe
690 695 700

Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly Ser
705 710 715

Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr
720 725 730 735

Ser Asn Met Lys Phe Ser Met Asn Gly Cys Leu Leu Ile Gly Thr Leu
740 745 750

Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Asp Asn Phe
755 760 765

Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu

770

775

780

Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys

785

790

795

Ala Phe Ile Arg Thr Gly Val Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr Glu Glu Leu

800

805

810

815

Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe

820

825

830

Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Asp Tyr Ile Glu Cys Gln Asp Lys Val

835

840

845

Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Lys Trp Thr Lys Met Ser Ile Leu

850

855

860

Asn Thr Ala Gly Ser Phe Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Gln

865

870

875

Tyr Ala Arg Asp Ile Trp Arg Ile Glu Pro Val Glu Leu Pro

880

885

890

<210> 7
<211> 3283
<212> DNA
<213> Vicia faba

<220>
<221> CDS
<222> (58)..(3066)

<220>
<221> mat_peptide
<222> (250)..(3066)

<400> 7
acaatacaaaa caatcaaagc tctgtgagtg tgtgagtgag tgagagaaat tccaatt 57

atg gct tcc atg aca atg cgg ttt cat cca aat tcc acc gcc gta acc 105
Met Ala Ser Met Thr Met Arg Phe His Pro Asn Ser Thr Ala Val Thr
-60 -55 -50

gaa tcc gtt cct cgc cgt ggc tcc gtt tac gga ttc atc ggt tac aga 153
Glu Ser Val Pro Arg Arg Gly Ser Val Tyr Gly Phe Ile Gly Tyr Arg
-45 -40 -35

tcc tcg tcg ttg ttc gtc cga acg aac gtt atc aag tat cgt tct gtt 201
Ser Ser Ser Leu Phe Val Arg Thr Asn Val Ile Lys Tyr Arg Ser Val

-30	-25	-20	
aag cgt aat ctg gaa ttt agg agg aga agc gct ttc tct gtg aag tgt			249
Lys Arg Asn Leu Glu Phe Arg Arg Arg Ser Ala Phe Ser Val Lys Cys			
-15	-10	-5	-1
ggt tct ggt aat gaa gcg aaa cag aaa gtc aag gat cag gaa gtt caa			297
Gly Ser Gly Asn Glu Ala Lys Gln Lys Val Lys Asp Gln Glu Val Gln			
1	5	10	15
caa gaa gct aaa act tct ccg agc tca ttt gca cca gat act act tcc			345
Gln Glu Ala Lys Thr Ser Pro Ser Ser Phe Ala Pro Asp Thr Thr Ser			
20	25	30	
att gtg tca agt att aag tac cat gca gag ttc aca cca ctg ttt tct			393
Ile Val Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Leu Phe Ser			
35	40	45	
ccg gaa aaa ttt gag ctt cca caa gct ttc att gca act gca cag agt			441
Pro Glu Lys Phe Glu Leu Pro Gln Ala Phe Ile Ala Thr Ala Gln Ser			
50	55	60	
gtt cgt gat gct ctc ata ata aac tgg aat gct act tat gat tac tat			489
Val Arg Asp Ala Leu Ile Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr			
65	70	75	80
gag aag ctg aat gtt aag cag gca tat tac ctt tca atg gaa ttt tta			537
Glu Lys Leu Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu			
85	90	95	

cag gga aga gca tta ttg aat gca att ggc aat tta gag cta act ggt	585
Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly	
100 105 110	
ccc tat gca gag gct ttg agc cag ctt agt tat aaa tta gaa gac gtg	633
Pro Tyr Ala Glu Ala Leu Ser Gln Leu Ser Tyr Lys Leu Glu Asp Val	
115 120 125	
gca cac cag gag ccg gat gct gca ctt gga aat ggg ggt ctt gga cga	681
Ala His Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg	
130 135 140	
ctt gct tca tgt ttc ttg gac tct ttg gct acc ttg aat tat ccg gca	729
Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala	
145 150 155 160	
tgg ggt tat gga ctg aga tac aag tat ggc tta ttc aaa caa cga atc	777
Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile	
165 170 175	
acc aaa gat ggg caa gag gaa gtt gct gaa gat tgg ctc gag atg ggc	825
Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Met Gly	
180 185 190	
aat cct tgg gag atc gtt aga aat gac gtc tca tac cct gta agg ttc	873
Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Val Arg Phe	
195 200 205	

tat ggc aaa gtt gtt tca ggc tca gat ggt aaa aaa cat tgg gtt gga 921
Tyr Gly Lys Val Val Ser Gly Ser Asp Gly Lys Lys His Trp Val Gly
210 215 220

gga gaa gat atc aaa gct gtt gca cac gat gtc ccc ata ccc gga tat 969
Gly Glu Asp Ile Lys Ala Val Ala His Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr
225 230 235 240

aag acc aga agc aca att aac ctg aga ctt tgg tct aca aaa gct gca 1017
Lys Thr Arg Ser Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Lys Ala Ala
245 250 255

tcc gaa gaa ttt gat tta aat gct ttt aat tct gga agg cac acc gaa 1065
Ser Glu Glu Phe Asp Leu Asn Ala Phe Asn Ser Gly Arg His Thr Glu
260 265 270

gca tct gag gct cta gca aat gct gaa aag att tgc tat ata ctt tac 1113
Ala Ser Glu Ala Leu Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr
275 280 285

ccc ggg gat gaa tct ata gag gga aaa acc ctt cgc ctc aag caa caa 1161
Pro Gly Asp Glu Ser Ile Glu Gly Lys Thr Leu Arg Leu Lys Gln Gln
290 295 300

tat act tta tgt tcg gct tct ctt caa gat atc att gct cgt ttt gag 1209
Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu
305 310 315 320

aga aga tca ggg gca agt gtg aat tgg gaa gac ttt cct gaa aag gtt 1257

Arg Arg Ser Gly Ala Ser Val Asn Trp Glu Asp Phe Pro Glu Lys Val	
325	330 335
gca gtg cag atg aat gat act cac cca act ttg tgc atc cca gag ctg	1305
Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu	
340	345 350
atg aga atc ctg ata gat ata aag ggt tta agc tgg aag gat gct tgg	1353
Met Arg Ile Leu Ile Asp Ile Lys Gly Leu Ser Trp Lys Asp Ala Trp	
355	360 365
aat atc acc caa cgg act gta gca tac aca aac cat act gtt ctt ccg	1401
Asn Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro	
370	375 380
gag gca tta gag aaa tgg agc atg gac ctt atg gag aaa ttg ctt cca	1449
Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Met Asp Leu Met Glu Lys Leu Leu Pro	
385	390 395 400
cgc cat gtt gag att ata gaa atg att gat gag gag ctg att cgg acc	1497
Arg His Val Glu Ile Ile Glu Met Ile Asp Glu Glu Leu Ile Arg Thr	
405	410 415
ata atc gca gaa tat ggc aca gca gat tca gac tta ctt gat aag aaa	1545
Ile Ile Ala Glu Tyr Gly Thr Ala Asp Ser Asp Leu Leu Asp Lys Lys	
420	425 430
ttg aag gaa atg aga ata cta gaa aat gtt gaa ttg cct gca gaa ttt	1593
Leu Lys Glu Met Arg Ile Leu Glu Asn Val Glu Leu Pro Ala Glu Phe	

435	440	445	
gca gat ata cta gtt aaa acc aag gag gcc act gat att tct agt gag			1641
Ala Asp Ile Leu Val Lys Thr Lys Glu Ala Thr Asp Ile Ser Ser Glu			
450	455	460	
gaa gtg caa att tct aaa gaa ggg gga gaa gaa gaa gaa act tct aaa			1689
Glu Val Gln Ile Ser Lys Glu Gly Gly Glu Glu Glu Glu Thr Ser Lys			
465	470	475	480
gaa ggg gga gaa gaa gaa gaa gaa gaa gaa gta gga gga gga aga gaa			1737
Glu Gly Gly Glu Glu Glu Glu Glu Lys Glu Val Gly Gly Gly Arg Glu			
485	490	495	
gaa ggc gat gat ggt aag gaa gat gaa gtg gaa aaa gca att gct gaa			1785
Glu Gly Asp Asp Gly Lys Glu Asp Glu Val Glu Lys Ala Ile Ala Glu			
500	505	510	
aag gat gga acg gtt aaa agc tcc att ggg gat aag aaa aag aag ttg			1833
Lys Asp Gly Thr Val Lys Ser Ser Ile Gly Asp Lys Lys Lys Lys Leu			
515	520	525	
cct gag cca gta cca gta ccg cca aaa ttg gtt cgt atg gcc aat ctt			1881
Pro Glu Pro Val Pro Val Pro Pro Lys Leu Val Arg Met Ala Asn Leu			
530	535	540	
tgt gtt gtg ggt ggt cat gca gtg aat ggg gtt gca gag ata cat agt			1929
Cys Val Val Gly Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser			
545	550	555	560

gaa att gtc aag gat gac gtg ttc aat gca ttt tat aag ttg tgg cct	1977
Glu Ile Val Lys Asp Asp Val Phe Asn Ala Phe Tyr Lys Leu Trp Pro	
565 570 575	
gag aaa ttc cag aac aaa aca aat ggc gtg acg cct agg aga tgg att	2025
Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile	
580 585 590	
agg ttc tgc aat cca gat ttg agt aaa ata ata act cag tgg ata ggc	2073
Arg Phe Cys Asn Pro Asp Leu Ser Lys Ile Ile Thr Gln Trp Ile Gly	
595 600 605	
aca gaa gac tgg atc cta aat act gag aaa ctg gct gaa ctg cgg aag	2121
Thr Glu Asp Trp Ile Leu Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys	
610 615 620	
ttt gca gat aat gag gat ctg caa aca caa tgg agg gaa gca aaa agg	2169
Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Thr Gln Trp Arg Glu Ala Lys Arg	
625 630 635 640	
aat aac aag gtg aaa gtt gca gca ttc ctc aga gaa aga aca gga tat	2217
Asn Asn Lys Val Lys Val Ala Ala Phe Leu Arg Glu Arg Thr Gly Tyr	
645 650 655	
tct gtc agt cct gat tca atg ttt gac atc cag gtg aaa aga atc cat	2265
Ser Val Ser Pro Asp Ser Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His	
660 665 670	

gaa tat aaa cga caa tta tta aat ata ttt gga att gtt tat cgc tac 2313
Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr
675 680 685

aag aag atg aaa gaa atg aat gct gct gaa aga aaa gaa aat ttt gtt 2361
Lys Lys Met Lys Glu Met Asn Ala Ala Glu Arg Lys Glu Asn Phe Val
690 695 700

cca aga gtt tgt ata ttt ggg gga aaa gca ttt gct act tat gtg caa 2409
Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln
705 710 715 720

gcc aaa aga att gtg aaa ttt att aca gat gtt gga gct act gta aat 2457
Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Val Asn
725 730 735

cat gat cca gaa ata gga gat ctt ctt aag gtt att ttt gtc cct gac 2505
His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Ile Phe Val Pro Asp
740 745 750

tac aat gtt agt gtt gcg gag atg ctt att cct gct agt gaa ttg tca 2553
Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Met Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser
755 760 765

caa cat atc agt act gct gga atg gag gca agt gga act agc aac atg 2601
Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met
770 775 780

aaa ttt gca atg aat gga tgc tta cag att gga act ttg gat ggg gcc 2649

Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Leu Gln Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala
 785 790 795 800

aat gtt gaa ata agg gaa gag gtt ggt gct gac aac ttc ttc ctt ttt 2697
 Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Ala Asp Asn Phe Phe Leu Phe
 805 810 815

ggt gct aag gct cgt gaa att gtt ggg ctc agg aaa gaa aga gca aga 2745
 Gly Ala Lys Ala Arg Glu Ile Val Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Arg
 820 825 830

ggg aag ttt gtc cct gat cca cga ttc gaa gaa gtt aaa aaa ttt gtc 2793
 Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Lys Phe Val
 835 840 845

aga agt ggt gtc ttt ggg tct tac aac tat gat gaa ctg att gga tcc 2841
 Arg Ser Gly Val Phe Gly Ser Tyr Asn Tyr Asp Glu Leu Ile Gly Ser
 850 855 860

tta gaa gga aat gaa ggt ttt ggt cga gca gat tat ttt ctt gtg ggc 2889
 Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly
 865 870 875 880

cag gac ttc cct agc tat tta gaa tgc cag gag gag gtc gac aaa gct 2937
 Gln Asp Phe Pro Ser Tyr Leu Glu Cys Gln Glu Glu Val Asp Lys Ala
 885 890 895

tat cgc gac caa aaa aaa tgg aca aga atg tca ata ttg aac aca gca 2985
 Tyr Arg Asp Gln Lys Lys Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala

900	905	910	
ggc tca tcc aaa ttc agc agt gac cgt acc att cat gaa tat gca cga			3033
Gly Ser Ser Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Arg			
915	920	925	
gaa ata tgg aac att gag cca gtc aaa ttg gag tagaggggta atctatacta			3086
Glu Ile Trp Asn Ile Glu Pro Val Lys Leu Glu			
930	935		
tacccttggg aatagcagag aatcgggtgcc acgtcgtaat atgatcacta cttaccaag			3146
taccattag tgaaaaataa actaagtttt gtaaaattaa aataagggtc tggttttaca			3206
tactgaaata aacagaagtt ttgtaaaatt aaaataaggg tctggctggt gtcctccaaa			3266
acaagcctac attcctg			3283

<210> 8

<211> 1003

<212> PRT

<213> Vicia faba

<400> 8

Met Ala Ser Met Thr Met Arg Phe His Pro Asn Ser Thr Ala Val Thr

-60

-55

-50

Glu Ser Val Pro Arg Arg Gly Ser Val Tyr Gly Phe Ile Gly Tyr Arg
-45 -40 -35

Ser Ser Ser Leu Phe Val Arg Thr Asn Val Ile Lys Tyr Arg Ser Val
-30 -25 -20

Lys Arg Asn Leu Glu Phe Arg Arg Arg Ser Ala Phe Ser Val Lys Cys
-15 -10 -5 -1

Gly Ser Gly Asn Glu Ala Lys Gln Lys Val Lys Asp Gln Glu Val Gln
1 5 10 15

Gln Glu Ala Lys Thr Ser Pro Ser Ser Phe Ala Pro Asp Thr Thr Ser
20 25 30

Ile Val Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Leu Phe Ser
35 40 45

Pro Glu Lys Phe Glu Leu Pro Gln Ala Phe Ile Ala Thr Ala Gln Ser
50 55 60

Val Arg Asp Ala Leu Ile Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr
65 70 75 80

Glu Lys Leu Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu
85 90 95

Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly
100 105 110

Pro Tyr Ala Glu Ala Leu Ser Gln Leu Ser Tyr Lys Leu Glu Asp Val
115 120 125

Ala His Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg
130 135 140

Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala
145 150 155 160

Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile
165 170 175

Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Met Gly

180

185

190

Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Val Arg Phe

195

200

205

Tyr Gly Lys Val Val Ser Gly Ser Asp Gly Lys Lys His Trp Val Gly

210

215

220

Gly Glu Asp Ile Lys Ala Val Ala His Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr

225

230

235

240

Lys Thr Arg Ser Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Lys Ala Ala

245

250

255

Ser Glu Glu Phe Asp Leu Asn Ala Phe Asn Ser Gly Arg His Thr Glu

260

265

270

Ala Ser Glu Ala Leu Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr

275

280

285

Pro Gly Asp Glu Ser Ile Glu Gly Lys Thr Leu Arg Leu Lys Gln Gln

290

295

300

Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu
305 310 315 320

Arg Arg Ser Gly Ala Ser Val Asn Trp Glu Asp Phe Pro Glu Lys Val
325 330 335

Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu
340 345 350

Met Arg Ile Leu Ile Asp Ile Lys Gly Leu Ser Trp Lys Asp Ala Trp
355 360 365

Asn Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro
370 375 380

Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Met Asp Leu Met Glu Lys Leu Leu Pro
385 390 395 400

Arg His Val Glu Ile Ile Glu Met Ile Asp Glu Glu Leu Ile Arg Thr
405 410 415

Ile Ile Ala Glu Tyr Gly Thr Ala Asp Ser Asp Leu Leu Asp Lys Lys
 420 425 430

Leu Lys Glu Met Arg Ile Leu Glu Asn Val Glu Leu Pro Ala Glu Phe
 435 440 445

Ala Asp Ile Leu Val Lys Thr Lys Glu Ala Thr Asp Ile Ser Ser Glu
 450 455 460

Glu Val Gln Ile Ser Lys Glu Gly Gly Glu Glu Glu Glu Thr Ser Lys
 465 470 475 480

Glu Gly Gly Glu Glu Glu Glu Glu Lys Glu Val Gly Gly Gly Arg Glu
 485 490 495

Glu Gly Asp Asp Gly Lys Glu Asp Glu Val Glu Lys Ala Ile Ala Glu
 500 505 510

Lys Asp Gly Thr Val Lys Ser Ser Ile Gly Asp Lys Lys Lys Lys Leu
 515 520 525

Pro Glu Pro Val Pro Val Pro Pro Lys Leu Val Arg Met Ala Asn Leu
530 535 540

Cys Val Val Gly Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser
545 550 555 560

Glu Ile Val Lys Asp Asp Val Phe Asn Ala Phe Tyr Lys Leu Trp Pro
565 570 575

Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile
580 585 590

Arg Phe Cys Asn Pro Asp Leu Ser Lys Ile Ile Thr Gln Trp Ile Gly
595 600 605

Thr Glu Asp Trp Ile Leu Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys
610 615 620

Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Thr Gln Trp Arg Glu Ala Lys Arg
625 630 635 640

Asn Asn Lys Val Lys Val Ala Ala Phe Leu Arg Glu Arg Thr Gly Tyr

645

650

655

Ser Val Ser Pro Asp Ser Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His
660 665 670

Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr
675 680 685

Lys Lys Met Lys Glu Met Asn Ala Ala Glu Arg Lys Glu Asn Phe Val
690 695 700

Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln
705 710 715 720

Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Val Asn
725 730 735

His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Ile Phe Val Pro Asp
740 745 750

Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Met Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser
755 760 765

Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met
770 775 780

Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Leu Gln Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala
785 790 795 800

Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Ala Asp Asn Phe Phe Leu Phe
805 810 815

Gly Ala Lys Ala Arg Glu Ile Val Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Arg
820 825 830

Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Lys Phe Val
835 840 845

Arg Ser Gly Val Phe Gly Ser Tyr Asn Tyr Asp Glu Leu Ile Gly Ser
850 855 860

Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly
865 870 875 880

Gln Asp Phe Pro Ser Tyr Leu Glu Cys Gln Glu Glu Val Asp Lys Ala
885 890 895

Tyr Arg Asp Gln Lys Lys Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala
900 905 910

Gly Ser Ser Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Arg
915 920 925

Glu Ile Trp Asn Ile Glu Pro Val Lys Leu Glu
930 935

<210> 9

<211> 2889

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2889)

<400> 9

atg gat acg atg cga atc tcc ggt gta tca acc gga gct gag gtt tta 48

Met Asp Thr Met Arg Ile Ser Gly Val Ser Thr Gly Ala Glu Val Leu
 1 5 10 15

ata caa tgc aat tcc tta tca agc ctc gtt tct cgt cgt tgc gac gac 96
 Ile Gln Cys Asn Ser Leu Ser Ser Leu Val Ser Arg Arg Cys Asp Asp
 20 25 30

gga aaa tgg cga acg aga atg ttt ccg gcg aga aac aga gac ttg cgt 144
 Gly Lys Trp Arg Thr Arg Met Phe Pro Ala Arg Asn Arg Asp Leu Arg
 35 40 45

cca tcg ccg acg aga aga tcc ttt ttg tgc gtg aaa tct atc tct agc 192
 Pro Ser Pro Thr Arg Arg Ser Phe Leu Ser Val Lys Ser Ile Ser Ser
 50 55 60

gaa ccg aaa gcc aaa gta acc gac gca gtt ctc gat tcc gaa caa gaa 240
 Glu Pro Lys Ala Lys Val Thr Asp Ala Val Leu Asp Ser Glu Gln Glu
 65 70 75 80

gtg ttt att agc tcg atg aat ccg ttt gcg cca gat gct gct tcg gta 288
 Val Phe Ile Ser Ser Met Asn Pro Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Val
 85 90 95

gct tcg agt atc aag tac cac gcg gag ttt acg cca ttg ttt tca ccg 336
 Ala Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Leu Phe Ser Pro
 100 105 110

gag aag ttt gag ttg cca aag gcg ttc ttt gcg act gcg caa agt gtt 384
 Glu Lys Phe Glu Leu Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val

115	120	125	
aga gat gct ttg atc atg aat tgg aat gca act tat gag tat tac aac			432
Arg Asp Ala Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Glu Tyr Tyr Asn			
130	135	140	
aga gtg aat gtg aaa caa gcg tat tat ttg tca atg gag ttt ttg cag			480
Arg Val Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln			
145	150	155	160
ggt aga gcc tta tcg aat gcc gtg ggt aac ctt ggg ctt aat agc gct			528
Gly Arg Ala Leu Ser Asn Ala Val Gly Asn Leu Gly Leu Asn Ser Ala			
165	170	175	
tat ggt gat gct ttg aag agg ctt ggt ttt gat ttg gaa agc gtg gct			576
Tyr Gly Asp Ala Leu Lys Arg Leu Gly Phe Asp Leu Glu Ser Val Ala			
180	185	190	
agt cag gag cca gat cct gca ctt ggg aat ggt gga ctc ggg aga ctt			624
Ser Gln Glu Pro Asp Pro Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu			
195	200	205	
gcc tcg tgt ttt ttg gat tcc atg gca act ttg aat tat ccg gct tgg			672
Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp			
210	215	220	
ggt tat gga ctt aga tac aag tat ggc ttg ttc aaa cag aga att aca			720
Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr			
225	230	235	240

aaa gat gga cag gag gaa gct gca gaa gat tgg ctt gag cta agc aat 768
 Lys Asp Gly Gln Glu Glu Ala Ala Glu Asp Trp Leu Glu Leu Ser Asn
 245 250 255

cct tgg gaa ata gtc aga aat gat gtc tca tat cct att aag ttc tat 816
 Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Ile Lys Phe Tyr
 260 265 270

ggg aaa gtg gtt ttt gga tca gat ggt aag aaa cgg tgg att ggt gga 864
 Gly Lys Val Val Phe Gly Ser Asp Gly Lys Lys Arg Trp Ile Gly Gly
 275 280 285

gaa gac att gtt gct gtt gct tat gat gtt cct ata cct ggt tat aaa 912
 Glu Asp Ile Val Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys
 290 295 300

act aag aca act atc aat ctg cgg ctc tgg tca aca aaa gct cct tcc 960
 Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Lys Ala Pro Ser
 305 310 315 320

gaa gat ttt gat tta tct tca tat aac tct ggg aag cat act gag gca 1008
 Glu Asp Phe Asp Leu Ser Ser Tyr Asn Ser Gly Lys His Thr Glu Ala
 325 330 335

gca gaa gct cta ttc aac gct gaa aag att tgc ttc gtg ctt tac ccc 1056
 Ala Glu Ala Leu Phe Asn Ala Glu Lys Ile Cys Phe Val Leu Tyr Pro
 340 345 350

gga gat gag tca act gaa gga aag gct ctt cgt ctg aag caa caa tac 1104
Gly Asp Glu Ser Thr Glu Gly Lys Ala Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr
355 360 365

act ctg tgc tca gcc tcg cta caa gat atc gta gca cgt ttt gag aca 1152
Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Val Ala Arg Phe Glu Thr
370 375 380

agg tct gga gga aac gtc aac tgg gaa gaa ttt cca gag aag gtt gca 1200
Arg Ser Gly Gly Asn Val Asn Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala
385 390 395 400

gtg cag atg aat gac act cac cct acc cta tgc att cct gag cta atg 1248
Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met
405 410 415

agg att cta atg gat tta aaa gga cta agc tgg gaa gac gct tgg aaa 1296
Arg Ile Leu Met Asp Leu Lys Gly Leu Ser Trp Glu Asp Ala Trp Lys
420 425 430

atc aca caa agg act gtg gca tac aca aac cat aca gtc ttg cct gag 1344
Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu
435 440 445

gca ctg gag aag tgg agt tta gaa ctc atg gag aaa ttg ctt cct cgt 1392
Ala Leu Glu Lys Trp Ser Leu Glu Leu Met Glu Lys Leu Leu Pro Arg
450 455 460

cat gtg gag att atc gaa aag att gat gag gag cta gtt cgc aca att 1440

His Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Glu Glu Leu Val Arg Thr Ile
 465 470 475 480

gtt tca gag tat ggc acc gcg gat cct gac tta ctt gaa gaa aaa ctg 1488
 Val Ser Glu Tyr Gly Thr Ala Asp Pro Asp Leu Leu Glu Glu Lys Leu
 485 490 495

aag gca atg agg atc ttg gaa aat gtc gag ttg cct tct gcc ttt gca 1536
 Lys Ala Met Arg Ile Leu Glu Asn Val Glu Leu Pro Ser Ala Phe Ala
 500 505 510

gat gtg atc gtg aag ccg gtg aac aaa cca gtt act gca aaa gat gct 1584
 Asp Val Ile Val Lys Pro Val Asn Lys Pro Val Thr Ala Lys Asp Ala
 515 520 525

caa aat ggc gtg aaa acg gaa caa gaa gag gaa aaa act gct gga gag 1632
 Gln Asn Gly Val Lys Thr Glu Gln Glu Glu Glu Lys Thr Ala Gly Glu
 530 535 540

gaa gag gaa gac gaa gtt atc cca gaa cca aca gta gaa ccc ccc aag 1680
 Glu Glu Glu Asp Glu Val Ile Pro Glu Pro Thr Val Glu Pro Pro Lys
 545 550 555 560

atg gtc cgt atg gcc aac ctt gct gtt gtg ggt ggt cat gct gta aat 1728
 Met Val Arg Met Ala Asn Leu Ala Val Val Gly Gly His Ala Val Asn
 565 570 575

ggc gtt gca gag ata cac agt gaa ata gtg aag cag gac gtg ttt aat 1776
 Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Gln Asp Val Phe Asn

580	585	590	
gat ttc gta cag ttg tgg cca gaa aaa ttt cag aac aaa aca aat gga			1824
Asp Phe Val Gln Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly			
595	600	605	
gta aca cca agg cga tgg att cgt ttt tgc aac cca tat tta agt gat			1872
Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Tyr Leu Ser Asp			
610	615	620	
att ata act aac tgg ata ggc aca gaa gac tgg gtc tta aat acc gaa			1920
Ile Ile Thr Asn Trp Ile Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu			
625	630	635	640
aag gtt gcg gaa cta aga aag ttt gca gat aat gaa gat ctc caa tct			1968
Lys Val Ala Glu Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Ser			
645	650	655	
gag tgg agg gca gca aag aag aag aac aag ttg aag gtt gta tca ctt			2016
Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Lys Asn Lys Leu Lys Val Val Ser Leu			
660	665	670	
atc aag gaa aga act gga tat act gtc agc ccc gat gca atg ttc gac			2064
Ile Lys Glu Arg Thr Gly Tyr Thr Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp			
675	680	685	
att cag atc aag cgt ata cat gag tac aag cga caa ctg cta aat atc			2112
Ile Gln Ile Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile			
690	695	700	

ttg gga att gtt tac cgc tac aaa aag atg aag gaa atg agt gct agt 2160
 Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Ser
 705 710 715 720

gag aga gag aaa gca ttt gtt cca aga gtt tgc ata ttt ggg gga aaa 2208
 Glu Arg Glu Lys Ala Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys
 725 730 735

gca ttt gcc aca tat gtg caa gct aag aga att gtt aaa ttt atc aca 2256
 Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr
 740 745 750

gat gtt gcg tct aca att aac cat gat cca gaa ata ggt gac ctc ctt 2304
 Asp Val Ala Ser Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu
 755 760 765

aag gtt atc ttt gtt cct gat tac aat gtc agt gtt gct gaa ttg ctc 2352
 Lys Val Ile Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Leu Leu
 770 775 780

att cca gca agt gag ctt tct cag cac atc agt act gct ggg atg gaa 2400
 Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu
 785 790 795 800

gct agt ggg aca agc aac atg aaa ttt tcg atg aac ggt tgc gtt ttg 2448
 Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Met Asn Gly Cys Val Leu
 805 810 815

att gga acc ttg gat ggg gcg aat gtc gag att aga gaa gaa gtt gga Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly 820 825 830	2496
gaa gaa aat ttc ttc ctc ttt ggt gcc aaa gct gat cag att gtg aac Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Lys Ala Asp Gln Ile Val Asn 835 840 845	2544
ctc agg aag gag aga gca gag gga aag ttt gtt ccc gat cct act ttt Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Thr Phe 850 855 860	2592
gaa gaa gtc aag aag ttc gtt gga agc ggc gtc ttt ggc tca aat agc Glu Glu Val Lys Lys Phe Val Gly Ser Gly Val Phe Gly Ser Asn Ser 865 870 875 880	2640
tat gat gaa cta atc ggc tct ttg gaa gga aac gaa ggc ttt gga cga Tyr Asp Glu Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg 885 890 895	2688
gcg gat tac ttc cta gtt ggc aaa gac ttt cct agt tac atc gaa tgc Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys 900 905 910	2736
caa gaa aaa gtc gac gag gca tac cga gac cag aaa aga tgg acg aga Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Arg Trp Thr Arg 915 920 925	2784
atg tca ata atg aac aca gca ggt tca ttc aag ttt agc agt gac cgg	2832

Met Ser Ile Met Asn Thr Ala Gly Ser Phe Lys Phe Ser Ser Asp Arg
 930 935 940

acg atc cac gaa tac gcc aaa gac ata tgg aat att aag caa gtg gaa 2880
 Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Lys Gln Val Glu
 945 950 955 960

ctt cca tga 2889
 Leu Pro

<210> 10
 <211> 962
 <212> PRT
 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 10

Met Asp Thr Met Arg Ile Ser Gly Val Ser Thr Gly Ala Glu Val Leu
 1 5 10 15

Ile Gln Cys Asn Ser Leu Ser Ser Leu Val Ser Arg Arg Cys Asp Asp
 20 25 30

Gly Lys Trp Arg Thr Arg Met Phe Pro Ala Arg Asn Arg Asp Leu Arg
 35 40 45

Pro Ser Pro Thr Arg Arg Ser Phe Leu Ser Val Lys Ser Ile Ser Ser
50 55 60

Glu Pro Lys Ala Lys Val Thr Asp Ala Val Leu Asp Ser Glu Gln Glu
65 70 75 80

Val Phe Ile Ser Ser Met Asn Pro Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Val
85 90 95

Ala Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr Pro Leu Phe Ser Pro
100 105 110

Glu Lys Phe Glu Leu Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val
115 120 125

Arg Asp Ala Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Glu Tyr Tyr Asn
130 135 140

Arg Val Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln
145 150 155 160

Gly Arg Ala Leu Ser Asn Ala Val Gly Asn Leu Gly Leu Asn Ser Ala
165 170 175

Tyr Gly Asp Ala Leu Lys Arg Leu Gly Phe Asp Leu Glu Ser Val Ala
180 185 190

Ser Gln Glu Pro Asp Pro Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu
195 200 205

Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp
210 215 220

Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr
225 230 235 240

Lys Asp Gly Gln Glu Glu Ala Ala Glu Asp Trp Leu Glu Leu Ser Asn
245 250 255

Pro Trp Glu Ile Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Ile Lys Phe Tyr
260 265 270

Gly Lys Val Val Phe Gly Ser Asp Gly Lys Lys Arg Trp Ile Gly Gly
275 280 285

Glu Asp Ile Val Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys
290 295 300

Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Lys Ala Pro Ser
305 310 315 320

Glu Asp Phe Asp Leu Ser Ser Tyr Asn Ser Gly Lys His Thr Glu Ala
325 330 335

Ala Glu Ala Leu Phe Asn Ala Glu Lys Ile Cys Phe Val Leu Tyr Pro
340 345 350

Gly Asp Glu Ser Thr Glu Gly Lys Ala Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr
355 360 365

Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Val Ala Arg Phe Glu Thr
370 375 380

Arg Ser Gly Gly Asn Val Asn Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala

Asp Val Ile Val Lys Pro Val Asn Lys Pro Val Thr Ala Lys Asp Ala
515 520 525

Gln Asn Gly Val Lys Thr Glu Gln Glu Glu Glu Lys Thr Ala Gly Glu
530 535 540

Glu Glu Glu Asp Glu Val Ile Pro Glu Pro Thr Val Glu Pro Pro Lys
545 550 555 560

Met Val Arg Met Ala Asn Leu Ala Val Val Gly Gly His Ala Val Asn
565 570 575

Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Gln Asp Val Phe Asn
580 585 590

Asp Phe Val Gln Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly
595 600 605

Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Tyr Leu Ser Asp
610 615 620

Ile Ile Thr Asn Trp Ile Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu
625 630 635 640

Lys Val Ala Glu Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Ser
645 650 655

Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Lys Asn Lys Leu Lys Val Val Ser Leu
660 665 670

Ile Lys Glu Arg Thr Gly Tyr Thr Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp
675 680 685

Ile Gln Ile Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile
690 695 700

Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Ser
705 710 715 720

Glu Arg Glu Lys Ala Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys
725 730 735

Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr
740 745 750

Asp Val Ala Ser Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu
755 760 765

Lys Val Ile Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Leu Leu
770 775 780

Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu
785 790 795 800

Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Met Asn Gly Cys Val Leu
805 810 815

Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly
820 825 830

Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Lys Ala Asp Gln Ile Val Asn
835 840 845

Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Thr Phe

850

855

860

Glu Glu Val Lys Lys Phe Val Gly Ser Gly Val Phe Gly Ser Asn Ser
865 870 875 880

Tyr Asp Glu Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg
885 890 895

Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys
900 905 910

Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Arg Trp Thr Arg
915 920 925

Met Ser Ile Met Asn Thr Ala Gly Ser Phe Lys Phe Ser Ser Asp Arg
930 935 940

Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Lys Gln Val Glu
945 950 955 960

Leu Pro

<210> 11

<211> 3088

<212> DNA

<213> *Spinacia oleracea*

<220>

<221> CDS

<222> (57)..(2972)

<400> 11

ggcacgaggt gtatcggagt cactcagagt cagagagatt attcaagaga tcaaca atg 59
Met
1

gcg aca ttg cca tta tca tca aca aca cct tca acc gga aga aca gag 107
Ala Thr Leu Pro Leu Ser Ser Thr Thr Pro Ser Thr Gly Arg Thr Glu
5 10 15

aat tgt ttc tct tcg tac tat tca tcg tca att tca cga gtt atg gaa 155
Asn Cys Phe Ser Ser Tyr Tyr Ser Ser Ser Ile Ser Arg Val Met Glu
20 25 30

ttt ggg tta aaa aac ggc tgt aat tcc aag ctg ttg ttt tct tct gtc 203
Phe Gly Leu Lys Asn Gly Cys Asn Ser Lys Leu Leu Phe Ser Ser Val
35 40 45

aga aat gtg ttc agt gaa tcg aag ccg aaa tcg gag gaa ccg atc att 299
Arg Asn Val Phe Ser Glu Ser Lys Pro Lys Ser Glu Glu Pro Ile Ile
70 75 80

gat tct gct tca agg caa tca agt att aaa tac cat gcg gag ttc act 395
Asp Ser Ala Ser Arg Gln Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe Thr
100 105 110

gct gca cag agt gtt aga gat tca ctt att att aac tgg aat gct act 491
Ala Ala Gln Ser Val Arg Asp Ser Leu Ile Ile Asn Trp Asn Ala Thr
130 135 140 145

atg gaa ttt ctc cag ggt aga gca ctg ttg aat gcg att ggg aat ttg 587

Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu
 165 170 175

gaa cta acc gat gct tat gga gat gct ttg aaa aag ctt gga cac aat 635
 Glu Leu Thr Asp Ala Tyr Gly Asp Ala Leu Lys Lys Leu Gly His Asn
 180 185 190

ctg gaa gct gta gct tgt cag gaa cga gat gct gca ctt gga aat ggg 683
 Leu Glu Ala Val Ala Cys Gln Glu Arg Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly
 195 200 205

ggt ctc ggg agg ctc gct tcg tgc ttt ctt gac tct ctc gct aca ttg 731
 Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu
 210 215 220 225

aat tat cct gca tgg ggt tat gga cta aga tac aag tat ggg tta ttc 779
 Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe
 230 235 240

aag caa atg att acc aag gat ggt caa gaa gaa gtt gct gag aat tgg 827
 Lys Gln Met Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp
 245 250 255

ctt gag att gct aat cca tgg gaa ctt gtg aga aat gat gtt tcc tat 875
 Leu Glu Ile Ala Asn Pro Trp Glu Leu Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr
 260 265 270

tca ata aaa ttt tat gga aag gtg gtt tct gga tcg gat ggc aga agt 923
 Ser Ile Lys Phe Tyr Gly Lys Val Val Ser Gly Ser Asp Gly Arg Ser

275	280	285	
cat tgg act ggg gga gag gat atc agg gct gtt gcc tat gat gtt cct			971
His Trp Thr Gly Gly Glu Asp Ile Arg Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro			
290	295	300	305
att cct ggg tat caa act aaa acc act att aat ctt cga ttg tgg tgt			1019
Ile Pro Gly Tyr Gln Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp Cys			
310	315	320	
act act gta tca tct gaa gac ttt gac tta tct gct ttt aat gcg ggg			1067
Thr Thr Val Ser Ser Glu Asp Phe Asp Leu Ser Ala Phe Asn Ala Gly			
325	330	335	
gaa cac gcc aaa gca aat gag gct cgt gcg aat gcg gaa aag atc tgt			1115
Glu His Ala Lys Ala Asn Glu Ala Arg Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys			
340	345	350	
agc gta cta tac ccc ggg gat gaa tct atg gaa gga aag atc ctc cgt			1163
Ser Val Leu Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Met Glu Gly Lys Ile Leu Arg			
355	360	365	
ctg aag caa caa tac acc cta tgt tcg gct tct ttg caa gac atc att			1211
Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile			
370	375	380	385
tca caa ttt gaa agg aga tca ggg gaa cat gta aat tgg gaa gaa ttt			1259
Ser Gln Phe Glu Arg Arg Ser Gly Glu His Val Asn Trp Glu Glu Phe			
390	395	400	

cca gag aag gtg gct gtg cag atg aat gac act cat cca aca ttg tgt	1307
Pro Glu Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys	
405 410 415	
ata cca gaa ctg atg agg ata cta ata gat gta aaa gga ctt gcc tgg	1355
Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ala Trp	
420 425 430	
aag gaa gct tgg aat ata acc caa aga act gtt gcg tat aca aat cat	1403
Lys Glu Ala Trp Asn Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His	
435 440 445	
act gtt ttg ccg gag gca ttg gag aaa tgg agt ttt gaa ctt atg caa	1451
Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Phe Glu Leu Met Gln	
450 455 460 465	
tcc ttg ctt cct cga cat gtt gag att ata gag aaa ata gac gag gag	1499
Ser Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Glu Glu	
470 475 480	
cta gtt gat acc atc gtt tct gag tat ggt act gat gac ccc aaa ttg	1547
Leu Val Asp Thr Ile Val Ser Glu Tyr Gly Thr Asp Asp Pro Lys Leu	
485 490 495	
ctg atg gga aaa ctg aat gag ttg aga ata ctg gag aat ttt cat ctt	1595
Leu Met Gly Lys Leu Asn Glu Leu Arg Ile Leu Glu Asn Phe His Leu	
500 505 510	

ccc agt tcg gtt gcc agt ata atc aag gat aaa att acc tgt caa gtc	1643
Pro Ser Ser Val Ala Ser Ile Ile Lys Asp Lys Ile Thr Cys Gln Val	
515 520 525	
gac gag gat aaa aaa att gaa att tct gat gaa gta gat gga cta gtt	1691
Asp Glu Asp Lys Lys Ile Glu Ile Ser Asp Glu Val Asp Gly Leu Val	
530 535 540 545	
gtt gta gag gaa agt gaa gaa ggt gat ata gag aaa cag gca gtg gaa	1739
Val Val Glu Glu Ser Glu Glu Gly Asp Ile Glu Lys Gln Ala Val Glu	
550 555 560	
gag cca gtt cca aaa cca gca aag ttg gtt cgg atg gct aac ctt tgc	1787
Glu Pro Val Pro Lys Pro Ala Lys Leu Val Arg Met Ala Asn Leu Cys	
565 570 575	
ata gtt ggg ggt cat gca gta aat ggg gtt gcc gag att cat agc caa	1835
Ile Val Gly Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Gln	
580 585 590	
atc gtg aag gaa caa gtt ttc cgt gac ttc ttc gag ttg tgg cca gag	1883
Ile Val Lys Glu Gln Val Phe Arg Asp Phe Phe Glu Leu Trp Pro Glu	
595 600 605	
aaa ttt cag aac aaa aca aat ggg gtg act cca aga aga tgg atc cgg	1931
Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg	
610 615 620 625	
ttt tgc aat cca gaa cta agc agt atc tta aca aaa tgg att ggg tct	1979

Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Ser Ile Leu Thr Lys Trp Ile Gly Ser	
630	635
	640
gac gac tgg gtt ctt aac acc gaa aaa ctt gca gaa ctg cga aag ttt 2027	
Asp Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys Phe	
645	650
	655
gca gat aat aaa gat ctt cac act gaa tgg atg gaa gca aaa cgg aac 2075	
Ala Asp Asn Lys Asp Leu His Thr Glu Trp Met Glu Ala Lys Arg Asn	
660	665
	670
aac aaa cag aag gtt gtt tcg tta atc aaa gag aga aca ggt tac acg 2123	
Asn Lys Gln Lys Val Val Ser Leu Ile Lys Glu Arg Thr Gly Tyr Thr	
675	680
	685
gtc agc cca gat gca atg ttt gat att cag atc aag cgt att cat gaa 2171	
Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp Ile Gln Ile Lys Arg Ile His Glu	
690	695
	700
	705
tac aag cgg caa ctt atg aac ata ttg gga att gta tac cgc tac aaa 2219	
Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys	
710	715
	720
aaa atg aaa gaa atg agt gct gca gag agg aag gaa aaa tat gtt cca 2267	
Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Ala Glu Arg Lys Glu Lys Tyr Val Pro	
725	730
	735
aga gtt tgt ata ttc gga gga aaa gct ttt gcc aca tat gtg cag gct 2315	
Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala	

740	745	750	
aaa aga ata gtg aaa ttt atc act gat gta gga gct aca att aat cac			2363
Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His			
755	760	765	
gat cct gaa att ggt gat cta ctg aag gtt gtg ttc atc ccc gat tac			2411
Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asp Tyr			
770	775	780	785
aat gtt agt gtg gct gag tta ttg atc cct gca agt gaa ctt tca cag			2459
Asn Val Ser Val Ala Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln			
790	795	800	
cat ata agc act gct ggg atg gag gca agt gga aca agc aat atg aag			2507
His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys			
805	810	815	
ttt tca atg aat gga tgt atc tta att ggg acc cta gat ggt gcc aat			2555
Phe Ser Met Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn			
820	825	830	
gtt gag att aga gaa gaa gtc gga gaa gat aac ttc ttt ctg ttt ggc			2603
Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Asp Asn Phe Phe Leu Phe Gly			
835	840	845	
gct cga gca cat gat att gct ggc tta agg aag gaa aga gct gag ggc			2651
Ala Arg Ala His Asp Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly			
850	855	860	865

aag tat gtg ccg gac cca tgt ttt gaa gaa gta aag gag tat gtt aga	2699
Lys Tyr Val Pro Asp Pro Cys Phe Glu Glu Val Lys Glu Tyr Val Arg	
870 875 880	
agt ggt gtc ttt ggt tca aac agt tat gat gaa ctg tta ggg tct tta	2747
Ser Gly Val Phe Gly Ser Asn Ser Tyr Asp Glu Leu Leu Gly Ser Leu	
885 890 895	
gag gga aat gaa gga ttt gga cgt gct gat tat ttc ctt gtg ggc aaa	2795
Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys	
900 905 910	
gac ttc cct agt tat gta gaa tgc caa gaa caa gtt gac caa gca tat	2843
Asp Phe Pro Ser Tyr Val Glu Cys Gln Glu Gln Val Asp Gln Ala Tyr	
915 920 925	
aga gat caa cag aaa tgg aca aga atg tca atc cta aat aca gct ggt	2891
Arg Asp Gln Gln Lys Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly	
930 935 940 945	
tca ttc aag ttt agc agc gac cga acg att cat caa tat gct aag gat	2939
Ser Phe Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Gln Tyr Ala Lys Asp	
950 955 960	
ata tgg aat atc cat cca gta aat ctg cca tga aattgaaaac aactggatgg	2992
Ile Trp Asn Ile His Pro Val Asn Leu Pro	
965 970	

ctgccagag taaccatcat gctagaactc ttaaaagcgc ctctctctat atttttttta 3052

atgaataatt ttggtcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 3088

<210> 12

<211> 971

<212> PRT

<213> Spinacia oleracea

<400> 12

Met Ala Thr Leu Pro Leu Ser Ser Thr Thr Pro Ser Thr Gly Arg Thr
1 5 10 15

Glu Asn Cys Phe Ser Ser Tyr Tyr Ser Ser Ser Ile Ser Arg Val Met
20 25 30

Glu Phe Gly Leu Lys Asn Gly Cys Asn Ser Lys Leu Leu Phe Ser Ser
35 40 45

Val Asn Tyr Lys Pro Met Ile Met Arg Gly Ser Arg Arg Cys Ile Val
50 55 60

Ile Arg Asn Val Phe Ser Glu Ser Lys Pro Lys Ser Glu Glu Pro Ile

65 70 75 80

Ile Glu Gln Glu Thr Pro Ser Ile Leu Asn Pro Leu Ser Asn Leu Ser
85 90 95

Pro Asp Ser Ala Ser Arg Gln Ser Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Phe
100 105 110

Thr Pro Leu Phe Ala Pro Asn Asp Phe Ser Leu Pro Lys Ala Phe Phe
115 120 125

Ala Ala Ala Gln Ser Val Arg Asp Ser Leu Ile Ile Asn Trp Asn Ala
130 135 140

Thr Tyr Ala His Tyr Glu Lys Met Asn Met Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu
145 150 155 160

Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn
165 170 175

Leu Glu Leu Thr Asp Ala Tyr Gly Asp Ala Leu Lys Lys Leu Gly His
180 185 190

Asn Leu Glu Ala Val Ala Cys Gln Glu Arg Asp Ala Ala Leu Gly Asn
195 200 205

Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr
210 215 220

Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu
225 230 235 240

Phe Lys Gln Met Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn
245 250 255

Trp Leu Glu Ile Ala Asn Pro Trp Glu Leu Val Arg Asn Asp Val Ser
260 265 270

Tyr Ser Ile Lys Phe Tyr Gly Lys Val Val Ser Gly Ser Asp Gly Arg
275 280 285

Ser His Trp Thr Gly Gly Glu Asp Ile Arg Ala Val Ala Tyr Asp Val
290 295 300

Pro Ile Pro Gly Tyr Gln Thr Lys Thr Thr Ile Asn Leu Arg Leu Trp
305 310 315 320

Cys Thr Thr Val Ser Ser Glu Asp Phe Asp Leu Ser Ala Phe Asn Ala
325 330 335

Gly Glu His Ala Lys Ala Asn Glu Ala Arg Ala Asn Ala Glu Lys Ile
340 345 350

Cys Ser Val Leu Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Met Glu Gly Lys Ile Leu
355 360 365

Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile
370 375 380

Ile Ser Gln Phe Glu Arg Arg Ser Gly Glu His Val Asn Trp Glu Glu
385 390 395 400

Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu
405 410 415

Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ala
420 425 430

Trp Lys Glu Ala Trp Asn Ile Thr Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn
435 440 445

His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Phe Glu Leu Met
450 455 460

Gln Ser Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Glu
465 470 475 480

Glu Leu Val Asp Thr Ile Val Ser Glu Tyr Gly Thr Asp Asp Pro Lys
485 490 495

Leu Leu Met Gly Lys Leu Asn Glu Leu Arg Ile Leu Glu Asn Phe His
500 505 510

Leu Pro Ser Ser Val Ala Ser Ile Ile Lys Asp Lys Ile Thr Cys Gln
515 520 525

Val Asp Glu Asp Lys Lys Ile Glu Ile Ser Asp Glu Val Asp Gly Leu

530

535

540

Val Val Val Glu Glu Ser Glu Glu Gly Asp Ile Glu Lys Gln Ala Val
545 550 555 560

Glu Glu Pro Val Pro Lys Pro Ala Lys Leu Val Arg Met Ala Asn Leu
565 570 575

Cys Ile Val Gly Gly His Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser
580 585 590

Gln Ile Val Lys Glu Gln Val Phe Arg Asp Phe Phe Glu Leu Trp Pro
595 600 605

Glu Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile
610 615 620

Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Ser Ile Leu Thr Lys Trp Ile Gly
625 630 635 640

Ser Asp Asp Trp Val Leu Asn Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Arg Lys
645 650 655

Phe Ala Asp Asn Lys Asp Leu His Thr Glu Trp Met Glu Ala Lys Arg
 660 665 670

Asn Asn Lys Gln Lys Val Val Ser Leu Ile Lys Glu Arg Thr Gly Tyr
 675 680 685

Thr Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp Ile Gln Ile Lys Arg Ile His
 690 695 700

Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr
 705 710 715 720

Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Ala Glu Arg Lys Glu Lys Tyr Val
 725 730 735

Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln
 740 745 750

Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn
 755 760 765

His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asp
770 775 780

Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser
785 790 795 800

Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met
805 810 815

Lys Phe Ser Met Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala
820 825 830

Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Asp Asn Phe Phe Leu Phe
835 840 845

Gly Ala Arg Ala His Asp Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu
850 855 860

Gly Lys Tyr Val Pro Asp Pro Cys Phe Glu Glu Val Lys Glu Tyr Val
865 870 875 880

Arg Ser Gly Val Phe Gly Ser Asn Ser Tyr Asp Glu Leu Leu Gly Ser
885 890 895

Leu Glu Gly Asn Glu Gly Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly
900 905 910

Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Val Glu Cys Gln Glu Gln Val Asp Gln Ala
915 920 925

Tyr Arg Asp Gln Gln Lys Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala
930 935 940

Gly Ser Phe Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Gln Tyr Ala Lys
945 950 955 960

Asp Ile Trp Asn Ile His Pro Val Asn Leu Pro
965 970

<210> 13

<211> 2952

<212> DNA

<213> Zea mays

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2952)

<400> 13

ggc gac gac cac ctc gcc gcc gct gca gct cgc cac cgc ctc ccg ccc 48

Gly Asp Asp His Leu Ala Ala Ala Ala Ala Arg His Arg Leu Pro Pro

1 5 10 15

gca cgc ctc ctc ctc cgg cgg tgg cgg ggt tct cct ccg cgg gcg gtt 96

Ala Arg Leu Leu Leu Arg Arg Trp Arg Gly Ser Pro Pro Arg Ala Val

20 25 30

ccg gag gtg ggg tcg cgc cgg gtc ggg gtc ggg gtc gag ggg cga ttg 144

Pro Glu Val Gly Ser Arg Arg Val Gly Val Gly Val Glu Gly Arg Leu

35 40 45

cag cgg cgg gtg tcg gcg cgc agc gtg gcg agc gat ccg gac gtg caa 192

Gln Arg Arg Val Ser Ala Arg Ser Val Ala Ser Asp Arg Asp Val Gln

50 55 60

ggc ccc gtc tcg ccc gcg gaa ggg ctt cca aat gtg cta aac tcc atc 240

Gly Pro Val Ser Pro Ala Glu Gly Leu Pro Asn Val Leu Asn Ser Ile

65 70 75 80

ggc tca tct gcc att gca tca aac atc aag cac cat gca gag ttc gct 288

Gly Ser Ser Ala Ile Ala Ser Asn Ile Lys His His Ala Glu Phe Ala

85 90 95

ccc ttg ttc tct cca gat cac ttt tct ccc ctg aaa gct tac cat gcg 336
 Pro Leu Phe Ser Pro Asp His Phe Ser Pro Leu Lys Ala Tyr His Ala
 100 105 110

act gct aaa agt gtc ctt gat gcg ctg ctg ata aac tgg aat gcg aca 384
 Thr Ala Lys Ser Val Leu Asp Ala Leu Leu Ile Asn Trp Asn Ala Thr
 115 120 125

tat gat tat tac aac aaa atg aat gta aaa caa gca tat tac ctg tcc 432
 Tyr Asp Tyr Tyr Asn Lys Met Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser
 130 135 140

atg gag ttt tta cag gga agg gct ctc aca aat gct att ggc aat cta 480
 Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Ile Gly Asn Leu
 145 150 155 160

gag att act ggt gaa tat gca gaa gca tta aaa caa ctt gga caa aac 528
 Glu Ile Thr Gly Glu Tyr Ala Glu Ala Leu Lys Gln Leu Gly Gln Asn
 165 170 175

ctg gag gat gtc gct agc cag gaa cca gat gct gcc ctg ggc aat ggt 576
 Leu Glu Asp Val Ala Ser Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly
 180 185 190

ggt tta ggc cgc ctg gct tct tgt ttt ttg gat tct ttg gca aca tta 624
 Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu
 195 200 205

aat tat cca gca ttg gga tat gga ctt cgc tat gaa tat ggc ctc ttt 672
 Asn Tyr Pro Ala Leu Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Glu Tyr Gly Leu Phe
 210 215 220

aag cag atc ata aca aag gat ggt cag gag gag att gct gag aat tgg 720
 Lys Gln Ile Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asn Trp
 225 230 235 240

ctt gag atg gga tat cct tgg gag gtt gta aga aat gat gtc tct tat 768
 Leu Glu Met Gly Tyr Pro Trp Glu Val Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr
 245 250 255

cct gtg aaa ttc tat ggt aaa gtg gtg gaa ggc act gat ggt agg aag 816
 Pro Val Lys Phe Tyr Gly Lys Val Val Glu Gly Thr Asp Gly Arg Lys
 260 265 270

cac tgg att gga gga gaa aat atc aag gct gtg gca cat gat gtc cct 864
 His Trp Ile Gly Gly Glu Asn Ile Lys Ala Val Ala His Asp Val Pro
 275 280 285

att cct ggc tac aaa act aga act acc aat aat ctg cgt ctt tgg tca 912
 Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Arg Thr Thr Asn Asn Leu Arg Leu Trp Ser
 290 295 300

aca act gta cca gca caa gat ttt gac ttg gca gct ttt aat tct gga 960
 Thr Thr Val Pro Ala Gln Asp Phe Asp Leu Ala Ala Phe Asn Ser Gly
 305 310 315 320

gat cat acc aag gca tat gaa gct cat cta aac gct aaa aag ata tgc 1008

Asp His Thr Lys Ala Tyr Glu Ala His Leu Asn Ala Lys Lys Ile Cys
 325 330 335

cac ata ttg tat cct ggg gat gaa tca cta gag ggg aaa gtt ctc cgc 1056
 His Ile Leu Tyr Pro Gly Asp Glu Ser Leu Glu Gly Lys Val Leu Arg
 340 345 350

ttg aag caa caa tat aca ttg tgt tca gcc tca cta cag gac atc att 1104
 Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile
 355 360 365

gct cgt ttt gag agt aga gct ggc gag tct ctc aac tgg gag gac ttc 1152
 Ala Arg Phe Glu Ser Arg Ala Gly Glu Ser Leu Asn Trp Glu Asp Phe
 370 375 380

ccc tcc aaa gtt gca gtg cag atg aat gac act cat cca aca cta tgc 1200
 Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys
 385 390 395 400

att cct gag tta atg aga ata ctg atg gat gtt aag gga tta agc tgg 1248
 Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Met Asp Val Lys Gly Leu Ser Trp
 405 410 415

agt gag gca tgg agt att aca gaa aga acc gtg gca tac act aac cat 1296
 Ser Glu Ala Trp Ser Ile Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His
 420 425 430

aca gtg ctt cct gaa gct cta gag aag tgg agc ttg gac ata atg cag 1344
 Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met Gln

435	440	445	
aaa ctt tta cct cga cat gtt gag ata ata gaa aca att gat gaa gag			1392
Lys Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Thr Ile Asp Glu Glu			
450	455	460	
ctg ata aac aac ata gtc tca aaa tat gga acc aca gat act gaa ctg			1440
Leu Ile Asn Asn Ile Val Ser Lys Tyr Gly Thr Thr Asp Thr Glu Leu			
465	470	475	480
ttg aaa aag aag ctg aaa gag atg aga att ctg gat aat gtt gac ctt			1488
Leu Lys Lys Lys Leu Lys Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Val Asp Leu			
485	490	495	
cca gct tcc att tcc caa cta ttt gtt aaa ccc aaa gac aaa aag gaa			1536
Pro Ala Ser Ile Ser Gln Leu Phe Val Lys Pro Lys Asp Lys Lys Glu			
500	505	510	
tct cct gct aaa tca aag caa aag tta ctt gtt aaa tct ttg gag act			1584
Ser Pro Ala Lys Ser Lys Gln Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu Thr			
515	520	525	
att gtt gag gtt gag gag aaa act gag ttg gaa gag gag gcg gag gtt			1632
Ile Val Glu Val Glu Glu Lys Thr Glu Leu Glu Glu Glu Ala Glu Val			
530	535	540	
cta tct gag ata gag gag gaa aaa ctt gaa tct gaa gaa gta gag gca			1680
Leu Ser Glu Ile Glu Glu Glu Lys Leu Glu Ser Glu Glu Val Glu Ala			
545	550	555	560

gaa gaa gcg agt tct gag gat gag tta gat cca ttt gta aag tct gat	1728
Glu Glu Ala Ser Ser Glu Asp Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp	
565 570 575	
cct aag tta cca aga gtt gtc cga atg gca aac ctc tgt gtt gtt ggt	1776
Pro Lys Leu Pro Arg Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly	
580 585 590	
ggg cat tca gta aat ggt gta gct gaa att cac agt gaa att gtg aaa	1824
Gly His Ser Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys	
595 600 605	
cag gat gtg ttc aac agc ttc tat gag atg tgg cca act aaa ttt cag	1872
Gln Asp Val Phe Asn Ser Phe Tyr Glu Met Trp Pro Thr Lys Phe Gln	
610 615 620	
aat aaa aca aat gga gtg act ccc agg cgt tgg atc cgg ttt tgt aat	1920
Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn	
625 630 635 640	
cct gca tta agt gca tta att tca aag tgg att ggt tct gat gac tgg	1968
Pro Ala Leu Ser Ala Leu Ile Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp	
645 650 655	
gtg ctt aat aca gac aaa ctg gca gaa ctg aag aag ttt gct gat aat	2016
Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asn	
660 665 670	

gaa gat ctg cat tca gag tgg cgt gct gct aag aag gct aac aaa atg 2064

Glu Asp Leu His Ser Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Met

675

680

685

aag gtt att tct ctt ata agg gag aag aca gga tat att gtc agt cca 2112

Lys Val Ile Ser Leu Ile Arg Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro

690

695

700

gat gca atg ttt gat gtg cag gtg aaa agg ata cat gaa tat aag cgg 2160

Asp Ala Met Phe Asp Val Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg

705

710

715

720

cag ctg cta aat atc ctt gga att gtc tac cgc tac aag aag atg aaa 2208

Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys

725

730

735

gaa atg agc aca gaa gaa aga gca aag agc ttt gtt cca agg gta tgc 2256

Glu Met Ser Thr Glu Glu Arg Ala Lys Ser Phe Val Pro Arg Val Cys

740

745

750

ata ttc ggt ggg aaa gca ttt gcc aca tat ata cag gca aaa agg atc 2304

Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Ile Gln Ala Lys Arg Ile

755

760

765

gtt aaa ttt att aca gat gtg gca gct acc gtg aac cat gat tca gac 2352

Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Ala Ala Thr Val Asn His Asp Ser Asp

770

775

780

att gga gat ttg ttg aag gtc gta ttt gtt cca gac tat aat gtt agt 2400

Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser
 785 790 795 800

gtt gcc gag gca cta att cct gcc agt gaa ttg tca cag cat atc agt 2448
 Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser
 805 810 815

act gct gga atg gaa gct agt ggg acc agt aac atg aag ttt gca atg 2496
 Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met
 820 825 830

aac ggt tgc att ctt att gga act tta gat ggt gca aat gtg gag atc 2544
 Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile
 835 840 845

aga gag gag gtt gga gaa gaa aac ttt ttc ctt ttt ggt gca gag gca 2592
 Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala
 850 855 860

cat gaa att gct ggt ttg cgg aaa gaa aga gcc gag gga aag ttt gtg 2640
 His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val
 865 870 875 880

cct gac cca aga ttt gag gag gtt aag gaa ttt gtc cgc agt ggt gtc 2688
 Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Val
 885 890 895

ttt ggg act tac agc tat gat gaa ttg atg ggg tct ttg gaa gga aat 2736
 Phe Gly Thr Tyr Ser Tyr Asp Glu Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn

900	905	910	
gaa ggt tac gga cgt gca gat tat ttc ctt gtt ggc aag gac ttc ccc			2784
Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro			
915	920	925	
agc tat att gaa tgc caa gaa aaa gtt gat gag gcg tac cga gat cag			2832
Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln			
930	935	940	
aag tta tgg aca agg atg tct atc ctc aac acg gct ggc tca tcc aag			2880
Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Ser Lys			
945	950	955	960
ttc agc agc gat agg acg att cat gag tac gcc aag gat atc tgg gat			2928
Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp			
965	970	975	
atc agc cct gcc atc ctt ccc tag			2952
Ile Ser Pro Ala Ile Leu Pro			
980			

<210> 14

<211> 983

<212> PRT

<213> Zea mays

<400> 14

Thr Ala Lys Ser Val Leu Asp Ala Leu Leu Ile Asn Trp Asn Ala Thr
115 120 125

Tyr Asp Tyr Tyr Asn Lys Met Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser
130 135 140

Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Ile Gly Asn Leu
145 150 155 160

Glu Ile Thr Gly Glu Tyr Ala Glu Ala Leu Lys Gln Leu Gly Gln Asn
165 170 175

Leu Glu Asp Val Ala Ser Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly
180 185 190

Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu
195 200 205

Asn Tyr Pro Ala Leu Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Glu Tyr Gly Leu Phe
210 215 220

Lys Gln Ile Ile Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asn Trp

Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile
355 360 365

Ala Arg Phe Glu Ser Arg Ala Gly Glu Ser Leu Asn Trp Glu Asp Phe
370 375 380

Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys
385 390 395 400

Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Met Asp Val Lys Gly Leu Ser Trp
405 410 415

Ser Glu Ala Trp Ser Ile Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His
420 425 430

Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met Gln
435 440 445

Lys Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Thr Ile Asp Glu Glu
450 455 460

Leu Ile Asn Asn Ile Val Ser Lys Tyr Gly Thr Thr Asp Thr Glu Leu
465 470 475 480

Leu Lys Lys Lys Leu Lys Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Val Asp Leu
485 490 495

Pro Ala Ser Ile Ser Gln Leu Phe Val Lys Pro Lys Asp Lys Lys Glu
500 505 510

Ser Pro Ala Lys Ser Lys Gln Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu Thr
515 520 525

Ile Val Glu Val Glu Glu Lys Thr Glu Leu Glu Glu Glu Ala Glu Val
530 535 540

Leu Ser Glu Ile Glu Glu Glu Lys Leu Glu Ser Glu Glu Val Glu Ala
545 550 555 560

Glu Glu Ala Ser Ser Glu Asp Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp
565 570 575

Pro Lys Leu Pro Arg Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly
580 585 590

Gly His Ser Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys
595 600 605

Gln Asp Val Phe Asn Ser Phe Tyr Glu Met Trp Pro Thr Lys Phe Gln
610 615 620

Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn
625 630 635 640

Pro Ala Leu Ser Ala Leu Ile Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp
645 650 655

Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asn
660 665 670

Glu Asp Leu His Ser Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Met
675 680 685

Lys Val Ile Ser Leu Ile Arg Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro

690

695

700

Asp Ala Met Phe Asp Val Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg
705 710 715 720

Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys
725 730 735

Glu Met Ser Thr Glu Glu Arg Ala Lys Ser Phe Val Pro Arg Val Cys
740 745 750

Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Ile Gln Ala Lys Arg Ile
755 760 765

Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Ala Ala Thr Val Asn His Asp Ser Asp
770 775 780

Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser
785 790 795 800

Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser
805 810 815

Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met
820 825 830

Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile
835 840 845

Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala
850 855 860

His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Glu Gly Lys Phe Val
865 870 875 880

Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Val
885 890 895

Phe Gly Thr Tyr Ser Tyr Asp Glu Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn
900 905 910

Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro
915 920 925

Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln
 930 935 940

Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Ser Lys
 945 950 955 960

Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp
 965 970 975

Ile Ser Pro Ala Ile Leu Pro
 980

<210> 15

<211> 3141

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(2788)

<400> 15

g cgg agc gtg gcg agc gat cgg ggc gtg cag ggg tcg gtg tcg ccc gag 49

Arg	Ser	Val	Ala	Ser	Asp	Arg	Gly	Val	Gln	Gly	Ser	Val	Ser	Pro	Glu	
1				5					10					15		
gaa gag att tca agt gtg cta aat tcc atc gat tcc tct acc att gca																97
Glu Glu Ile Ser Ser Val Leu Asn Ser Ile Asp Ser Ser Thr Ile Ala																
				20				25						30		
tca aac att aag cac cat gcg gag ttc aca cca gta ttc tct cca gag																145
Ser Asn Ile Lys His His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu																
				35				40						45		
cac ttt tca cct ctg aag gct tac cat gca act gct aaa agt gtt ctt																193
His Phe Ser Pro Leu Lys Ala Tyr His Ala Thr Ala Lys Ser Val Leu																
				50				55						60		
gat act ctg ata atg aac tgg aat gca aca tat gac tat tac gac aga																241
Asp Thr Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr Asp Arg																
				65				70						75		80
aca aat gtg aag caa gcg tat tac ctg tcc atg gag ttt tta cag gga																289
Thr Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly																
				85				90						95		
aga gct ctc act aat gcc gtt ggt aac ctt gag cta act gga caa tac																337
Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Gln Tyr																
				100				105						110		
gca gaa gca cta caa caa ctt gga cac agc cta gag gat gtt gct acc																385
Ala Glu Ala Leu Gln Gln Leu Gly His Ser Leu Glu Asp Val Ala Thr																

115	120	125	
cag gag cca gat gct gcc ctt ggg aat ggt ggt cta ggc cgg tta gct			433
Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala			
130	135	140	
tcc tgt ttc ttg gat tct ctg gca acc cta aat tat cca gca tgg gga			481
Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly			
145	150	155	160
tat gga ctt cga tac aaa cat ggc ctc ttt aag caa atc ata acg aag			529
Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile Thr Lys			
165	170	175	
gat ggt cag gag gag gta gct gaa aat tgg ctc gag atg gga aat cct			577
Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met Gly Asn Pro			
180	185	190	
tgg gag att gta aga acc gat gtc tcc tat cct gtg aag ttc tat ggt			625
Trp Glu Ile Val Arg Thr Asp Val Ser Tyr Pro Val Lys Phe Tyr Gly			
195	200	205	
aaa gtg gtt gaa ggc act gat ggg agg atg cac tgg att gga gga gaa			673
Lys Val Val Glu Gly Thr Asp Gly Arg Met His Trp Ile Gly Gly Glu			
210	215	220	
aat atc aag gtt gtt gct cat gat atc cct att cct ggc tac aag act			721
Asn Ile Lys Val Val Ala His Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr			
225	230	235	240

aaa act acc aac aat ctt cgt ctt tgg tca aca aca gtg cca tca caa	769
Lys Thr Thr Asn Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Thr Val Pro Ser Gln	
245 250 255	
gat ttc gat ttg gaa gct ttt aat gct gga gat cat gca agt gca tat	817
Asp Phe Asp Leu Glu Ala Phe Asn Ala Gly Asp His Ala Ser Ala Tyr	
260 265 270	
gaa gct cat cta aat gct gaa aag ata tgt cac gta ctg tat cct ggg	865
Glu Ala His Leu Asn Ala Glu Lys Ile Cys His Val Leu Tyr Pro Gly	
275 280 285	
gac gaa tca cca gag ggg aaa gtt ctt cgc ctg aag caa caa tat aca	913
Asp Glu Ser Pro Glu Gly Lys Val Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr	
290 295 300	
tta tgc tca gcc tca cta cag gat att att gct cgt ttc gag agg aga	961
Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg	
305 310 315 320	
gct ggt gat tct ctc agc tgg gag gac ttc ccc tct aaa gtt gca gtg	1009
Ala Gly Asp Ser Leu Ser Trp Glu Asp Phe Pro Ser Lys Val Ala Val	
325 330 335	
cag atg aat gac act cac cca aca ctg tgc att cct gag ttg atg aga	1057
Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg	
340 345 350	

ata ttg att gat gtt aaa ggg tta agc tgg aat gag gct tgg agt atc 1105
 Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ser Trp Asn Glu Ala Trp Ser Ile
 355 360 365

aca gaa aga act gtg gca tac aca aac cac acg gtg ctt cct gaa gct 1153
 Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala
 370 375 380

ctg gag aag tgg agc ttg gac ata atg cag aaa ctt ctt cct cgg cat 1201
 Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His
 385 390 395 400

gtt gaa atc ata gaa aaa att gat ggg gag ctg atg aac atc att atc 1249
 Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Gly Glu Leu Met Asn Ile Ile Ile
 405 410 415

tca aaa tac gga aca gaa gat act tca ctg tta aaa aag aag att aaa 1297
 Ser Lys Tyr Gly Thr Glu Asp Thr Ser Leu Leu Lys Lys Lys Ile Lys
 420 425 430

gaa atg aga atc tta gac aac att gac cta cca gat tct att gcc aaa 1345
 Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Ile Asp Leu Pro Asp Ser Ile Ala Lys

435 440 445

cta ttt gtg aaa cca aaa gag aaa aaa gaa tct cct gct aaa ttg aaa 1393
 Leu Phe Val Lys Pro Lys Glu Lys Lys Glu Ser Pro Ala Lys Leu Lys
 450 455 460

gag aaa ttg ctt gtc aaa tct ctg gag cct agt gtt gtg gtt gag gag	1441
Glu Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu Pro Ser Val Val Val Glu Glu	
465 470 475 480	
aaa act gtg tcc aaa gta gag ata aac gag gac tct gag gag gtg gag	1489
Lys Thr Val Ser Lys Val Glu Ile Asn Glu Asp Ser Glu Glu Val Glu	
485 490 495	
gta gac tct gaa gaa gtt gtg gag gca gaa aac gag gac tct gag gat	1537
Val Asp Ser Glu Glu Val Val Glu Ala Glu Asn Glu Asp Ser Glu Asp	
500 505 510	
gag tta gat cca ttt gta aaa tca gat cct aaa tta cct aga gtt gtc	1585
Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp Pro Lys Leu Pro Arg Val Val	
515 520 525	
cga atg gct aac ctt tgt gtt gtt ggt ggg cat tcg gtt aat ggt gtg	1633
Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His Ser Val Asn Gly Val	
530 535 540	
gct gcg att cac agc gag att gtg aaa gaa gat gta ttc aac agc ttt	1681
Ala Ala Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu Asp Val Phe Asn Ser Phe	
545 550 555 560	
tat gag atg tgg ccc gct aaa ttt caa aat aaa aca aat gga gtg act	1729
Tyr Glu Met Trp Pro Ala Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr	
565 570 575	

cct aga cgt tgg att cgg ttt tgt aat cct gaa tta agt gca atc att	1777
Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Ala Ile Ile	
580 585 590	
tca aaa tgg ata gga tct gat gat tgg gtt ttg aac act gat aaa ctt	1825
Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu	
595 600 605	
gct gaa tta aag aag ttt gct gat gat gag gat ctg caa tca gaa tgg	1873
Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asp Glu Asp Leu Gln Ser Glu Trp	
610 615 620	
cgt gct gct aaa aag gct aac aag gtg aag gtt gtt tct ctc ata aga	1921
Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Val Lys Val Val Ser Leu Ile Arg	
625 630 635 640	
gaa aaa aca gga tat atc gtc agt cca gat gca atg ttt gac gtt cag	1969
Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp Val Gln	
645 650 655	
gtg aaa agg atc cat gag tat aag cga cag ctg cta aat atc ctt gga	2017
Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly	
660 665 670	
att gtc tac cgc tac aag aag atg aaa gaa atg agt gca aaa gac aga	2065
Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Lys Asp Arg	
675 680 685	
ata aat agc ttt gtt cca agg gta tgc ata ttt ggt ggg aaa gca ttt	2113

Ile Asn Ser Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe
 690 695 700

gcc act tac gta cag gca aag agg ata gtg aag ttt att aca gat gtt 2161
 Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val
 705 710 715 720

gca gct act gta aat cat gat cca gaa att gga gat cta ttg aag gtt 2209
 Ala Ala Thr Val Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val
 725 730 735

gta ttt att cca gat tat aat gtt agt gtt gct gag gcg cta atc cct 2257
 Val Phe Ile Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro
 740 745 750

gcc agt gaa ttg tct cag cat atc agt act gct gga atg gaa gct agt 2305
 Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser
 755 760 765

gga acc agc aac atg aag ttt gca atg aat gga tgt atc ctt att gga 2353
 Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly
 770 775 780

act ttg gat ggt gct aat gtg gaa atc aga gag gag gtt gga gag gaa 2401
 Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu
 785 790 795 800

aac ttt ttc ctt ttt ggt gct gag gca cat gaa att gct ggt tta agg 2449
 Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala His Glu Ile Ala Gly Leu Arg

805	810	815	
aaa gag aga gcc cag gga aag ttt gtg cct gac cca aga ttc gaa gag			2497
Lys Glu Arg Ala Gln Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu			
820	825	830	
gtt aag aga ttt gtc cgc agt ggg gtc ttt gga act tac aac tac gat			2545
Val Lys Arg Phe Val Arg Ser Gly Val Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr Asp			
835	840	845	
gac ttg atg ggt tct ctg gaa gga aat gaa ggt tat ggg cgt gca gac			2593
Asp Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp			
850	855	860	
tat ttt ctt gtt ggt aaa gat ttc ccc agc tac att gaa tgc cag gag			2641
Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu			
865	870	875	880
aag gtt gat aaa gca tac cgc gat cag aaa cta tgg aca agg atg tca			2689
Lys Val Asp Lys Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser			
885	890	895	
atc ctc aac aca gcc agt tcc tcc aag ttc aac agc gac cgg acg att			2737
Ile Leu Asn Thr Ala Ser Ser Ser Lys Phe Asn Ser Asp Arg Thr Ile			
900	905	910	
cac gag tac gcc aag gac atc tgg gac atc aag cct gtc atc ctg ccc			2785
His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp Ile Lys Pro Val Ile Leu Pro			
915	920	925	

tag acaggcaagg caagcactag ccactccctg ccagcgacct tcagagctaa 2838

ggtgcgcgca accggtgatg cgatgacagc atctgcctcc cagctctcct tggcaggaag 2898

gtttcgcttt gctcccagtt ttgagtagac agaagcaagt tcagttcagg cttcgataaa 2958

acgctggaac tatgcaaatt gtagccgtgt tgcctagcct ggaacaccct tgttttacct 3018

gtaatgtgta gcagcctctg ctgatcagct catgtgctat atggaattct gaagtgaac 3078

catagttaaa agggatcggg tagtggcaaa aaaaaaaga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3138

aaa 3141

<210> 16

<211> 928

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 16

Arg Ser Val Ala Ser Asp Arg Gly Val Gln Gly Ser Val Ser Pro Glu
1 5 10 15

Glu Glu Ile Ser Ser Val Leu Asn Ser Ile Asp Ser Ser Thr Ile Ala
20 25 30

Ser Asn Ile Lys His His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu
35 40 45

His Phe Ser Pro Leu Lys Ala Tyr His Ala Thr Ala Lys Ser Val Leu
50 55 60

Asp Thr Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr Asp Arg
65 70 75 80

Thr Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Gln Tyr
100 105 110

Ala Glu Ala Leu Gln Gln Leu Gly His Ser Leu Glu Asp Val Ala Thr
115 120 125

Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala
130 135 140

Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly
145 150 155 160

Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile Thr Lys
165 170 175

Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met Gly Asn Pro
180 185 190

Trp Glu Ile Val Arg Thr Asp Val Ser Tyr Pro Val Lys Phe Tyr Gly
195 200 205

Lys Val Val Glu Gly Thr Asp Gly Arg Met His Trp Ile Gly Gly Glu
210 215 220

Asn Ile Lys Val Val Ala His Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr
225 230 235 240

Lys Thr Thr Asn Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Thr Val Pro Ser Gln
245 250 255

Asp Phe Asp Leu Glu Ala Phe Asn Ala Gly Asp His Ala Ser Ala Tyr
260 265 270

Glu Ala His Leu Asn Ala Glu Lys Ile Cys His Val Leu Tyr Pro Gly
275 280 285

Asp Glu Ser Pro Glu Gly Lys Val Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr
290 295 300

Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg
305 310 315 320

Ala Gly Asp Ser Leu Ser Trp Glu Asp Phe Pro Ser Lys Val Ala Val
325 330 335

Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg
340 345 350

Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ser Trp Asn Glu Ala Trp Ser Ile
355 360 365

Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala

370

375

380

Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His
385 390 395 400

Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Gly Glu Leu Met Asn Ile Ile Ile
405 410 415

Ser Lys Tyr Gly Thr Glu Asp Thr Ser Leu Leu Lys Lys Lys Ile Lys
420 425 430

Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Ile Asp Leu Pro Asp Ser Ile Ala Lys
435 440 445

Leu Phe Val Lys Pro Lys Glu Lys Lys Glu Ser Pro Ala Lys Leu Lys
450 455 460

Glu Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu Pro Ser Val Val Val Glu Glu
465 470 475 480

Lys Thr Val Ser Lys Val Glu Ile Asn Glu Asp Ser Glu Glu Val Glu
485 490 495

Val Asp Ser Glu Glu Val Val Glu Ala Glu Asn Glu Asp Ser Glu Asp
500 505 510

Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp Pro Lys Leu Pro Arg Val Val
515 520 525

Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His Ser Val Asn Gly Val
530 535 540

Ala Ala Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu Asp Val Phe Asn Ser Phe
545 550 555 560

Tyr Glu Met Trp Pro Ala Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr
565 570 575

Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Ala Ile Ile
580 585 590

Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu
595 600 605

Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asp Glu Asp Leu Gln Ser Glu Trp
610 615 620

Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Val Lys Val Val Ser Leu Ile Arg
625 630 635 640

Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro Asp Ala Met Phe Asp Val Gln
645 650 655

Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly
660 665 670

Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met Ser Ala Lys Asp Arg
675 680 685

Ile Asn Ser Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe
690 695 700

Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys Phe Ile Thr Asp Val
705 710 715 720

Ala Ala Thr Val Asn His Asp Pro Glu Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val
725 730 735

Val Phe Ile Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro
740 745 750

Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser
755 760 765

Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly
770 775 780

Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu
785 790 795 800

Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala His Glu Ile Ala Gly Leu Arg
805 810 815

Lys Glu Arg Ala Gln Gly Lys Phe Val Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu
820 825 830

Val Lys Arg Phe Val Arg Ser Gly Val Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr Asp

835

840

845

Asp Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp
850 855 860

Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu
865 870 875 880

Lys Val Asp Lys Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser
885 890 895

Ile Leu Asn Thr Ala Ser Ser Ser Lys Phe Asn Ser Asp Arg Thr Ile
900 905 910

His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp Ile Lys Pro Val Ile Leu Pro
915 920 925

<210> 17

<211> 2856

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2856)

<400> 17

atg gcg acc gcc tcg gcg ccg ctg cag ctg gcc acc gcg tcc cgg ccg 48
 Met Ala Thr Ala Ser Ala Pro Leu Gln Leu Ala Thr Ala Ser Arg Pro
 1 5 10 15

ctc ccc gtc ggc gtc ggc tgc ggc gga gga gga ggc ggg ggg ctc cac 96
 Leu Pro Val Gly Val Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Leu His
 20 25 30

gtg ggt ggt gcc cgc ggc ggg ggc gcg gca ccg gcg cgg cgg cgg ctg 144
 Val Gly Gly Ala Arg Gly Gly Gly Ala Ala Pro Ala Arg Arg Arg Leu
 35 40 45

gcg gtg cgg agc gtg gcg agc gat cgg ggc gtg cag ggg tcg gtg tcg 192
 Ala Val Arg Ser Val Ala Ser Asp Arg Gly Val Gln Gly Ser Val Ser
 50 55 60

ccc gag gaa gag att tca agt gtg cta aat tcc atc gat tcc tct acc 240
 Pro Glu Glu Glu Ile Ser Ser Val Leu Asn Ser Ile Asp Ser Ser Thr
 65 70 75 80

att gca tca aac att aag cac cat gcg gag ttc aca cca gta ttc tct 288
 Ile Ala Ser Asn Ile Lys His His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser
 85 90 95

cca gag cac ttt tca cct ctg aag gct tac cat gca act gct aaa agt	336
Pro Glu His Phe Ser Pro Leu Lys Ala Tyr His Ala Thr Ala Lys Ser	
100 105 110	
ggt ctt gat act ctg ata atg aac tgg aat gca aca tat gac tat tac	384
Val Leu Asp Thr Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr	
115 120 125	
gac aga aca aat gtg aag caa gcg tat tac ctg tcc atg gag ttt tta	432
Asp Arg Thr Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu	
130 135 140	
cag gga aga gct ctc act aat gcc gtt ggt aac ctt gag cta act gga	480
Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly	
145 150 155 160	
caa tac gca gaa gca cta caa caa ctt gga cac agc cta gag gat gtt	528
Gln Tyr Ala Glu Ala Leu Gln Gln Leu Gly His Ser Leu Glu Asp Val	
165 170 175	
gct acc cag gag cca gat gct gcc ctt ggg aat ggt ggt cta ggc cgg	576
Ala Thr Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg	
180 185 190	
tta gct tcc tgt ttc ttg gat tct ctg gca acc cta aat tat cca gca	624
Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala	
195 200 205	
tgg gga tat gga ctt cga tac aaa cat ggc ctc ttt aaa gca aat cat	672

Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys Ala Asn His
 210 215 220

acg aag gat ggt cag gag gag gta gct gaa aat tgg ctc gag atg gga 720
 Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met Gly
 225 230 235 240

aat cct tgg gag att gta aga acc gat gtc tcc tat cct gtg aag ttc 768
 Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Thr Asp Val Ser Tyr Pro Val Lys Phe
 245 250 255

tat ggt aaa gtg gtt gaa ggc act gat ggg agg atg cac tgg att gga 816
 Tyr Gly Lys Val Val Glu Gly Thr Asp Gly Arg Met His Trp Ile Gly
 260 265 270

gga gaa aat atc aag gtt gtt gct cat gat atc cct att cct ggc tac 864
 Gly Glu Asn Ile Lys Val Val Ala His Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr
 275 280 285

aag act aaa act acc aac aat ctt cgt ctt tgg tca aca aca gtg cca 912
 Lys Thr Lys Thr Thr Asn Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Thr Val Pro
 290 295 300

tca caa gat ttc gat ttg gaa gct ttt aat gct gga gat cat gca agt 960
 Ser Gln Asp Phe Asp Leu Glu Ala Phe Asn Ala Gly Asp His Ala Ser
 305 310 315 320

gca tat gaa gct cat cta aat gct gaa aag cct cac tac agg gat att 1008
 Ala Tyr Glu Ala His Leu Asn Ala Glu Lys Pro His Tyr Arg Asp Ile

325	330	335	
att gct cgt ttc gag agg aga gct ggt gat tct ctc agc tgg gag gac			1056
Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg Ala Gly Asp Ser Leu Ser Trp Glu Asp			
340	345	350	
ttc ccc tct aaa gtt gca gtg cag atg aat gac act cac cca aca ctg			1104
Phe Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu			
355	360	365	
tgc att cct gag ttg atg aga ata ttg att gat gtt aaa ggg tta agc			1152
Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ser			
370	375	380	
tgg aat gag gct tgg agt atc aca gaa aga act gtg gca tac aca aac			1200
Trp Asn Glu Ala Trp Ser Ile Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn			
385	390	395	400
cac acg gtg ctt cct gaa gct ctg gag aag tgg agc ttg gac ata atg			1248
His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met			
405	410	415	
cag aaa ctt ctt cct cgg cat gtt gaa atc ata gaa aaa att gat ggg			1296
Gln Lys Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Gly			
420	425	430	
gag ctg atg aac atc att atc tca aaa tac gga aca gaa gat act tca			1344
Glu Leu Met Asn Ile Ile Ile Ser Lys Tyr Gly Thr Glu Asp Thr Ser			
435	440	445	

ctg tta aaa aag aag att aaa gaa atg aga atc tta gac aac att gac 1392
Leu Leu Lys Lys Lys Ile Lys Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Ile Asp
450 455 460

cta cca gat tct att gcc aaa cta ttt gtg aaa cca aaa gag aaa aaa 1440
Leu Pro Asp Ser Ile Ala Lys Leu Phe Val Lys Pro Lys Glu Lys Lys
465 470 475 480

gaa tct cct gct aaa ttg aaa gag aaa ttg ctt gtc aaa tct ctg gag 1488
Glu Ser Pro Ala Lys Leu Lys Glu Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu
485 490 495

cct agt gtt gtg gtt gag gag aaa act gtg tcc aaa gta gag ata aac 1536
Pro Ser Val Val Val Glu Glu Lys Thr Val Ser Lys Val Glu Ile Asn
500 505 510

gag gac tct gag gag gtg gag gta gac tct gaa gaa gtt gtg gag gca 1584
Glu Asp Ser Glu Glu Val Glu Val Asp Ser Glu Glu Val Val Glu Ala
515 520 525

gaa aac gag gac tct gag gat gag tta gat cca ttt gta aaa tca gat 1632
Glu Asn Glu Asp Ser Glu Asp Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp
530 535 540

cct aaa tta cct aga gtt gtc cga atg gct aac ctt tgt gtt gtt ggt 1680
Pro Lys Leu Pro Arg Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly
545 550 555 560

ggg cat tcg gtt aat ggt gtg gct gcg att cac agc gag att gtg aaa	1728
Gly His Ser Val Asn Gly Val Ala Ala Ile His Ser Glu Ile Val Lys	
565 570 575	
gaa gat gta ttc aac agc ttt tat gag atg tgg ccc gct aaa ttt caa	1776
Glu Asp Val Phe Asn Ser Phe Tyr Glu Met Trp Pro Ala Lys Phe Gln	
580 585 590	
aat aaa aca aat gga gtg act cct aga cgt tgg att cgg ttt tgt aat	1824
Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn	
595 600 605	
cct gaa tta agt gca atc att tca aaa tgg ata gga tct gat gat tgg	1872
Pro Glu Leu Ser Ala Ile Ile Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp	
610 615 620	
gtt ttg aac act gat aaa ctt gct gaa tta aag aag ttt gct gat gat	1920
Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asp	
625 630 635 640	
gag gat ctg caa tca gaa tgg cgt gct gct aaa aag gct aac aag gtg	1968
Glu Asp Leu Gln Ser Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Val	
645 650 655	
aag gtt gtt tct ctc ata aga gaa aaa aca gga tat atc gtc agt cca	2016
Lys Val Val Ser Leu Ile Arg Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro	
660 665 670	
gat gca atg ttt gac gtt cag gtg aaa agg atc cat gag tat aag cga	2064

Asp Ala Met Phe Asp Val Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg
 675 680 685

cag ctg cta aat atc ctt gga att gtc tac cgc tac aag aag atg aaa 2112
 Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys
 690 695 700

gaa atg agt gca aaa gac aga ata aat agc ttt gtt cca agg gta tgc 2160
 Glu Met Ser Ala Lys Asp Arg Ile Asn Ser Phe Val Pro Arg Val Cys
 705 710 715 720

ata ttt ggt ggg aaa gca ttt gcc act tac gta cag gca aag agg ata 2208
 Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile
 725 730 735

gtg aag ttt att aca gat gtt gca gct act gta aat cat gat cca gaa 2256
 Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Ala Ala Thr Val Asn His Asp Pro Glu
 740 745 750

att gga gat cta ttg aag gtt gta ttt att cca gat tat aat gtt agt 2304
 Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asp Tyr Asn Val Ser
 755 760 765

gtt gct gag gcg cta atc cct gcc agt gaa ttg tct cag cat atc agt 2352
 Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser
 770 775 780

act gct gga atg gaa gct agt gga acc agc aac atg aag ttt gca atg 2400
 Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met

785	790	795	800
aat gga tgt atc ctt att gga act ttg gat ggt gct aat gtg gaa atc			2448
Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile			
805	810	815	
aga gag gag gtt gga gag gaa aac ttt ttc ctt ttt ggt gct gag gca			2496
Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala			
820	825	830	
cat gaa att gct ggt tta agg aaa gag aga gcc cag gga aag ttt gtg			2544
His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Gln Gly Lys Phe Val			
835	840	845	
cct gac cca aga ttc gaa gag gtt aag aga ttt gtc cgc agt ggg gtc			2592
Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Arg Phe Val Arg Ser Gly Val			
850	855	860	
ttt gga act tac aac tac gat gac ttg atg ggt tct ctg gaa gga aat			2640
Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr Asp Asp Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn			
865	870	875	880
gaa ggt tat ggg cgt gca gac tat ttt ctt gtt ggt aaa gat ttc ccc			2688
Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro			
885	890	895	
agc tac att gaa tgc cag gag aag gtt gat aaa gca tac cgc gat cag			2736
Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Lys Ala Tyr Arg Asp Gln			
900	905	910	

aaa cta tgg aca agg atg tca atc ctc aac aca gcc agt tcc tcc aag 2784
 Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Ser Ser Ser Lys
 915 920 925

ttc aac agc gac cgg acg att cac gag tac gcc aag gac atc tgg gac 2832
 Phe Asn Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp
 930 935 940

atc aag cct gtc atc ctg ccc tag 2856
 Ile Lys Pro Val Ile Leu Pro
 945 950

<210> 18

<211> 951

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 18

Met Ala Thr Ala Ser Ala Pro Leu Gln Leu Ala Thr Ala Ser Arg Pro
 1 5 10 15

Leu Pro Val Gly Val Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Leu His
 20 25 30

Val Gly Gly Ala Arg Gly Gly Gly Ala Ala Pro Ala Arg Arg Arg Leu
35 40 45

Ala Val Arg Ser Val Ala Ser Asp Arg Gly Val Gln Gly Ser Val Ser
50 55 60

Pro Glu Glu Glu Ile Ser Ser Val Leu Asn Ser Ile Asp Ser Ser Thr
65 70 75 80

Ile Ala Ser Asn Ile Lys His His Ala Glu Phe Thr Pro Val Phe Ser
85 90 95

Pro Glu His Phe Ser Pro Leu Lys Ala Tyr His Ala Thr Ala Lys Ser
100 105 110

Val Leu Asp Thr Leu Ile Met Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Tyr Tyr
115 120 125

Asp Arg Thr Asn Val Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu
130 135 140

Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly

145 150 155 160

Gln Tyr Ala Glu Ala Leu Gln Gln Leu Gly His Ser Leu Glu Asp Val
165 170 175

Ala Thr Gln Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg
180 185 190

Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala
195 200 205

Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys Ala Asn His
210 215 220

Thr Lys Asp Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asn Trp Leu Glu Met Gly
225 230 235 240

Asn Pro Trp Glu Ile Val Arg Thr Asp Val Ser Tyr Pro Val Lys Phe
245 250 255

Tyr Gly Lys Val Val Glu Gly Thr Asp Gly Arg Met His Trp Ile Gly
260 265 270

Gly Glu Asn Ile Lys Val Val Ala His Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr
275 280 285

Lys Thr Lys Thr Thr Asn Asn Leu Arg Leu Trp Ser Thr Thr Val Pro
290 295 300

Ser Gln Asp Phe Asp Leu Glu Ala Phe Asn Ala Gly Asp His Ala Ser
305 310 315 320

Ala Tyr Glu Ala His Leu Asn Ala Glu Lys Pro His Tyr Arg Asp Ile
325 330 335

Ile Ala Arg Phe Glu Arg Arg Ala Gly Asp Ser Leu Ser Trp Glu Asp
340 345 350

Phe Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu
355 360 365

Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile Leu Ile Asp Val Lys Gly Leu Ser
370 375 380

Trp Asn Glu Ala Trp Ser Ile Thr Glu Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn
385 390 395 400

His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Leu Asp Ile Met
405 410 415

Gln Lys Leu Leu Pro Arg His Val Glu Ile Ile Glu Lys Ile Asp Gly
420 425 430

Glu Leu Met Asn Ile Ile Ile Ser Lys Tyr Gly Thr Glu Asp Thr Ser
435 440 445

Leu Leu Lys Lys Lys Ile Lys Glu Met Arg Ile Leu Asp Asn Ile Asp
450 455 460

Leu Pro Asp Ser Ile Ala Lys Leu Phe Val Lys Pro Lys Glu Lys Lys
465 470 475 480

Glu Ser Pro Ala Lys Leu Lys Glu Lys Leu Leu Val Lys Ser Leu Glu
485 490 495

Pro Ser Val Val Val Glu Glu Lys Thr Val Ser Lys Val Glu Ile Asn
500 505 510

Glu Asp Ser Glu Glu Val Glu Val Asp Ser Glu Glu Val Val Glu Ala
515 520 525

Glu Asn Glu Asp Ser Glu Asp Glu Leu Asp Pro Phe Val Lys Ser Asp
530 535 540

Pro Lys Leu Pro Arg Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly
545 550 555 560

Gly His Ser Val Asn Gly Val Ala Ala Ile His Ser Glu Ile Val Lys
565 570 575

Glu Asp Val Phe Asn Ser Phe Tyr Glu Met Trp Pro Ala Lys Phe Gln
580 585 590

Asn Lys Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn
595 600 605

Pro Glu Leu Ser Ala Ile Ile Ser Lys Trp Ile Gly Ser Asp Asp Trp

610

615

620

Val Leu Asn Thr Asp Lys Leu Ala Glu Leu Lys Lys Phe Ala Asp Asp
625 630 635 640

Glu Asp Leu Gln Ser Glu Trp Arg Ala Ala Lys Lys Ala Asn Lys Val
645 650 655

Lys Val Val Ser Leu Ile Arg Glu Lys Thr Gly Tyr Ile Val Ser Pro
660 665 670

Asp Ala Met Phe Asp Val Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg
675 680 685

Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys
690 695 700

Glu Met Ser Ala Lys Asp Arg Ile Asn Ser Phe Val Pro Arg Val Cys
705 710 715 720

Ile Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile
725 730 735

Val Lys Phe Ile Thr Asp Val Ala Ala Thr Val Asn His Asp Pro Glu
740 745 750

Ile Gly Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asp Tyr Asn Val Ser
755 760 765

Val Ala Glu Ala Leu Ile Pro Ala Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser
770 775 780

Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met
785 790 795 800

Asn Gly Cys Ile Leu Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile
805 810 815

Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Glu Ala
820 825 830

His Glu Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Gln Gly Lys Phe Val
835 840 845

Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Val Lys Arg Phe Val Arg Ser Gly Val
850 855 860

Phe Gly Thr Tyr Asn Tyr Asp Asp Leu Met Gly Ser Leu Glu Gly Asn
865 870 875 880

Glu Gly Tyr Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro
885 890 895

Ser Tyr Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Lys Ala Tyr Arg Asp Gln
900 905 910

Lys Leu Trp Thr Arg Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Ser Ser Ser Lys
915 920 925

Phe Asn Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asp
930 935 940

Ile Lys Pro Val Ile Leu Pro
945 950

<210> 19
 <211> 2856
 <212> DNA
 <213> Triticum aestivum

<220>
 <221> CDS
 <222> (58)..(2556)

<400> 19

cgccacctcc cccgcacaca ccgagtgtc gtgctcgacg caattcccca ccccgcg 57

atg agt gcg gcg gac aag gtg aag ccg gcg gcc agc ccc gcg tcg gag 105
 Met Ser Ala Ala Asp Lys Val Lys Pro Ala Ala Ser Pro Ala Ser Glu
 1 5 10 15

gac ccc tcc gcc atc gcc ggc aac atc tcc tac cac gcg cag tac agc 153
 Asp Pro Ser Ala Ile Ala Gly Asn Ile Ser Tyr His Ala Gln Tyr Ser
 20 25 30

ccc cac ttc tcg ccg ctc gcc ttc ggc ccc gag cag gcc ttc tac gcc 201
 Pro His Phe Ser Pro Leu Ala Phe Gly Pro Glu Gln Ala Phe Tyr Ala
 35 40 45

acc gcc gag agc gtc cgc gac cac ctc ctc cag aga tgg aac gac acc 249
 Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp His Leu Leu Gln Arg Trp Asn Asp Thr
 50 55 60

tac ctg cat ttc cac aag acg gat ccc aag cag acc tac tac ctc tcc	297
Tyr Leu His Phe His Lys Thr Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser	
65 70 75 80	
atg gag tac ctg cag ggc cgc gcg ctc acc aac gcc gtc ggc aac ctc	345
Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu	
85 90 95	
gcc atc acc ggc gcc tac gct gac gcc ctg aag aag ttc ggc tac gag	393
Ala Ile Thr Gly Ala Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Phe Gly Tyr Glu	
100 105 110	
ctc gag gcc atc gct gga cag gag aga gat gcg gct ctg gga aat ggt	441
Leu Glu Ala Ile Ala Gly Gln Glu Arg Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly	
115 120 125	
ggc ttg ggc agg ctt gca tct tgc ttt ttg gat tca atg gca acg ctg	489
Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu	
130 135 140	
aac ttg cct tct tgg ggc tat ggc ctt cgt tac cgt tat ggc ctg ttc	537
Asn Leu Pro Ser Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe	
145 150 155 160	
aag cag cgc att gcc aag gaa gga caa gaa gaa atc gct gaa gat tgg	585
Lys Gln Arg Ile Ala Lys Glu Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp	
165 170 175	
ctt gat aag ttt agc cca tgg gag att gtc agg cat gat gtt gta tac	633

Leu Asp Lys Phe Ser Pro Trp Glu Ile Val Arg His Asp Val Val Tyr
 180 185 190

cca atc aga ttt ttc ggc cat gtc gag att tcg cca gat gga aag cgg 681
 Pro Ile Arg Phe Phe Gly His Val Glu Ile Ser Pro Asp Gly Lys Arg
 195 200 205

aaa tgg gcc ggt gga gaa gtt ctg aac gct tta gcc tat gat gtg cca 729
 Lys Trp Ala Gly Gly Glu Val Leu Asn Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro
 210 215 220

att cct ggg tac aag aca aaa aat gca atc agt ctt cgc ctt tgg gat 777
 Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn Ala Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp
 225 230 235 240

gca aca gct act gct gag gat ttc aac tta ttt cag ttc aat gat ggc 825
 Ala Thr Ala Thr Ala Glu Asp Phe Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly
 245 250 255

cag tat gag tca gct gct caa ctt cac tcg agg gca cag cag ata tgt 873
 Gln Tyr Glu Ser Ala Ala Gln Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys
 260 265 270

gct gtt ctc tat ccc ggt gat gct aca gaa gaa ggg aag ctt ctg aga 921
 Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg
 275 280 285

tta aag cag cag tat ttc ctt tgc agc gca tca ctt cag gat att att 969
 Leu Lys Gln Gln Tyr Phe Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile

290	295	300	
ttc aga ttt aaa gaa aga aaa gct gac aga gtt tca ggg aag tgg agt Phe Arg Phe Lys Glu Arg Lys Ala Asp Arg Val Ser Gly Lys Trp Ser 305 310 315 320			1017
gag ttc cct tcc aaa gtt gct gtt caa atg aat gac act cat cca act Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr 325 330 335			1065
ctt gcc att cct gag cta atg agg ttg ctt atg gac gtg gag gga ctt Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met Asp Val Glu Gly Leu 340 345 350			1113
ggt tgg gac gaa gcc tgg gct gtc aca aat aag acg gtt gct tac acc Gly Trp Asp Glu Ala Trp Ala Val Thr Asn Lys Thr Val Ala Tyr Thr 355 360 365			1161
aat cac acg gtt ctt cct gaa gct ctt gag aaa tgg tca cag gct gta Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val 370 375 380			1209
atg aag aaa ttg ctt cca cgt cac atg gaa atc att gag gaa att gac Met Lys Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp 385 390 395 400			1257
aag cgg ttt aga gaa atg gta atc tcc acc cgg aag gat atg gag gga Lys Arg Phe Arg Glu Met Val Ile Ser Thr Arg Lys Asp Met Glu Gly 405 410 415			1305

aag atc gaa tcg atg agg gtt tta gat aac aat ccc gag aag cca gta 1353
 Lys Ile Glu Ser Met Arg Val Leu Asp Asn Asn Pro Glu Lys Pro Val
 420 425 430

gtg cgg atg gcg aat ttg tgt gtt gtg gct ggg cat acg gtg aat gga 1401
 Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ala Gly His Thr Val Asn Gly
 435 440 445

gtg gcc gag ttg cac agc aac atc ttg aaa caa gag ctg ttt gca gat 1449
 Val Ala Glu Leu His Ser Asn Ile Leu Lys Gln Glu Leu Phe Ala Asp
 450 455 460

tat gtc tct att tgg cct aac aaa ttc cag aac aaa act aat gga att 1497
 Tyr Val Ser Ile Trp Pro Asn Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile
 465 470 475 480

aca cca cgt aga tgg ctc cgt ttt tgc aac cct gag ttg agt gaa ata 1545
 Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Glu Ile
 485 490 495

gtc act aaa tgg cta aaa aca gat cag tgg aca agc aac ctt gat ctt 1593
 Val Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Gln Trp Thr Ser Asn Leu Asp Leu
 500 505 510

ctc acc ggg ctt cgg aaa ttc gca gat gat gaa aaa cta cat gct gag 1641
 Leu Thr Gly Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asp Glu Lys Leu His Ala Glu
 515 520 525

tgg gca gca gcc aag ctg gcc agc aaa aag cgc cta gcc aag cat gta 1689
 Trp Ala Ala Ala Lys Leu Ala Ser Lys Lys Arg Leu Ala Lys His Val
 530 535 540

ttg gat gtg act ggt gtt aca att gac cca gat agc ctt ttt gat ata 1737
 Leu Asp Val Thr Gly Val Thr Ile Asp Pro Asp Ser Leu Phe Asp Ile
 545 550 555 560

caa att aaa cgc atc cac gaa tac aag aga cag ctg atg aac att ttg 1785
 Gln Ile Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu
 565 570 575

gga gct gtg tac aga tac aag aag tta aag gaa atg agc gca gca gac 1833
 Gly Ala Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Glu Met Ser Ala Ala Asp
 580 585 590

agg cag aag gtt aca ccg cgc act gtc atg gta gga ggg aaa gca ttt 1881
 Arg Gln Lys Val Thr Pro Arg Thr Val Met Val Gly Gly Lys Ala Phe
 595 600 605

gca aca tac acc aac gcc aaa aga ata gtg aaa ttg gta aat gat gtt 1929
 Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val
 610 615 620

ggt gct gtg gtg aac aac gat gct gac gtc aac aaa tat ctg aag gtg 1977
 Gly Ala Val Val Asn Asn Asp Ala Asp Val Asn Lys Tyr Leu Lys Val
 625 630 635 640

gtg ttc att cca aac tac aat gta tca gtg gct gaa gtg ctc att cct 2025
Val Phe Ile Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro
645 650 655

ggc agt gaa ctg tca cag cac atc agt act gca ggc atg gaa gca agt 2073
Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser
660 665 670

gga aca agt aac atg aag ttc tct ctg aat ggc tgt gtt atc att gga 2121
Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Leu Asn Gly Cys Val Ile Ile Gly
675 680 685

act ctc gat gga gcc aat gtt gaa atc aga gaa gaa gtg gga caa gac 2169
Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Gln Asp
690 695 700

aac ttc ttc ctt ttc ggt gcc aaa gca gat cag gtt gct ggt ctg agg 2217
Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Lys Ala Asp Gln Val Ala Gly Leu Arg
705 710 715 720

aag gat aga gaa aat ggc ttg ttc aag cca gac cca cgc ttc gaa gaa 2265
Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu
725 730 735

gcc aag cag ttt atc agg agt ggt gct ttc ggc acc tac gac tac act 2313
Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser Gly Ala Phe Gly Thr Tyr Asp Tyr Thr
740 745 750

cct ctc ttg gat tcc ctt gaa ggg aac act gga ttt ggg cgt ggt gac 2361

Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu Gly Asn Thr Gly Phe Gly Arg Gly Asp
 755 760 765

tac ttc ctt gtt ggc tat gac ttt cca agc tac att gat gca cag gcc 2409
 Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Asp Ala Gln Ala
 770 775 780

cgg gtt gat gaa gcc tac aag gac aag aag aaa tgg gtc aag atg tcc 2457
 Arg Val Asp Glu Ala Tyr Lys Asp Lys Lys Lys Trp Val Lys Met Ser
 785 790 795 800

atc ttg aac acg gct gga agc ggc aag ttc agc agc gac cgc acc atc 2505
 Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile
 805 810 815

gac caa tat gcg aag gag atc tgg ggc att tcg gct tgc cct gtt cca 2553
 Asp Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp Gly Ile Ser Ala Cys Pro Val Pro
 820 825 830

tga agaggagacg tgatcaagag gtgatggatg atgatgcgtg gcagtaataa 2606

ggaccttata ctggtccatg gtgaataacc cctgcttccg ttgtagctga gaagaatgaa 2666

gcaacgtacg aagcctgttg tgttgtgtat tctgctgcac ttttgaagtg catagaggat 2726

gcgacttttc ttttgttctt tttctttttt ggtctgtaac catactatit tgatcctgaa 2786

ccggaatggc ggaatcatcc aggttctcaa taaaatagtt caagttttga ttaaaaaaaaa 2846

aaaaaaaaaa

2856

<210> 20

<211> 832

<212> PRT

<213> Triticum aestivum

<400> 20

Met Ser Ala Ala Asp Lys Val Lys Pro Ala Ala Ser Pro Ala Ser Glu
1 5 10 15

Asp Pro Ser Ala Ile Ala Gly Asn Ile Ser Tyr His Ala Gln Tyr Ser
 20 25 30

Pro His Phe Ser Pro Leu Ala Phe Gly Pro Glu Gln Ala Phe Tyr Ala
 35 40 45

Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp His Leu Leu Gln Arg Trp Asn Asp Thr
 50 55 60

Tyr Leu His Phe His Lys Thr Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser
65 70 75 80

Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu
85 90 95

Ala Ile Thr Gly Ala Tyr Ala Asp Ala Leu Lys Lys Phe Gly Tyr Glu
100 105 110

Leu Glu Ala Ile Ala Gly Gln Glu Arg Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly
115 120 125

Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu
130 135 140

Asn Leu Pro Ser Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe
145 150 155 160

Lys Gln Arg Ile Ala Lys Glu Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp
165 170 175

Leu Asp Lys Phe Ser Pro Trp Glu Ile Val Arg His Asp Val Val Tyr
180 185 190

Pro Ile Arg Phe Phe Gly His Val Glu Ile Ser Pro Asp Gly Lys Arg
195 200 205

Lys Trp Ala Gly Gly Glu Val Leu Asn Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro
210 215 220

Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn Ala Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp
225 230 235 240

Ala Thr Ala Thr Ala Glu Asp Phe Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly
245 250 255

Gln Tyr Glu Ser Ala Ala Gln Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys
260 265 270

Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg
275 280 285

Leu Lys Gln Gln Tyr Phe Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile
290 295 300

Phe Arg Phe Lys Glu Arg Lys Ala Asp Arg Val Ser Gly Lys Trp Ser

305

310

315

320

Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr
325 330 335

Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met Asp Val Glu Gly Leu
340 345 350

Gly Trp Asp Glu Ala Trp Ala Val Thr Asn Lys Thr Val Ala Tyr Thr
355 360 365

Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val
370 375 380

Met Lys Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp
385 390 395 400

Lys Arg Phe Arg Glu Met Val Ile Ser Thr Arg Lys Asp Met Glu Gly
405 410 415

Lys Ile Glu Ser Met Arg Val Leu Asp Asn Asn Pro Glu Lys Pro Val
420 425 430

Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ala Gly His Thr Val Asn Gly
 435 440 445

Val Ala Glu Leu His Ser Asn Ile Leu Lys Gln Glu Leu Phe Ala Asp
 450 455 460

Tyr Val Ser Ile Trp Pro Asn Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile
 465 470 475 480

Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Glu Ile
 485 490 495

Val Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Gln Trp Thr Ser Asn Leu Asp Leu
 500 505 510

Leu Thr Gly Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asp Glu Lys Leu His Ala Glu
 515 520 525

Trp Ala Ala Ala Lys Leu Ala Ser Lys Lys Arg Leu Ala Lys His Val
 530 535 540

Leu Asp Val Thr Gly Val Thr Ile Asp Pro Asp Ser Leu Phe Asp Ile
545 550 555 560

Gln Ile Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu
565 570 575

Gly Ala Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Glu Met Ser Ala Ala Asp
580 585 590

Arg Gln Lys Val Thr Pro Arg Thr Val Met Val Gly Gly Lys Ala Phe
595 600 605

Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val
610 615 620

Gly Ala Val Val Asn Asn Asp Ala Asp Val Asn Lys Tyr Leu Lys Val
625 630 635 640

Val Phe Ile Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro
645 650 655

Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser
660 665 670

Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Leu Asn Gly Cys Val Ile Ile Gly
675 680 685

Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Gln Asp
690 695 700

Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Lys Ala Asp Gln Val Ala Gly Leu Arg
705 710 715 720

Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu
725 730 735

Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser Gly Ala Phe Gly Thr Tyr Asp Tyr Thr
740 745 750

Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu Gly Asn Thr Gly Phe Gly Arg Gly Asp
755 760 765

Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp Phe Pro Ser Tyr Ile Asp Ala Gln Ala

770

775

780

Arg Val Asp Glu Ala Tyr Lys Asp Lys Lys Lys Trp Val Lys Met Ser
785 790 795 800

Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile
805 810 815

Asp Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp Gly Ile Ser Ala Cys Pro Val Pro
820 825 830

<210> 21

<211> 2884

<212> DNA

<213> Citrus hybrid cultivar

<220>

<221> CDS

<222> (48)..(2570)

<400> 21

cggcacgagc tgaacaagc aagtaattcg gtaatttgtg gaatcaa atg gcg gat 56

Met Ala Asp

1

gcg aaa gca aac gga aag aat gag gcg gcc aaa ctg gcg aaa att ccg	104
Ala Lys Ala Asn Gly Lys Asn Glu Ala Ala Lys Leu Ala Lys Ile Pro	
5 10 15	
gcg gct gcg aat cca ttg gct aat gaa cca tcg gcg att gca tca aat	152
Ala Ala Ala Asn Pro Leu Ala Asn Glu Pro Ser Ala Ile Ala Ser Asn	
20 25 30 35	
ata agt tac cac gtg cag tac agt cct cat ttc tcg ccg act aag ttc	200
Ile Ser Tyr His Val Gln Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro Thr Lys Phe	
40 45 50	
gag ccg gag caa gct ttc ttt gcc acg gcg gag gtt gtc cgc gat cgt	248
Glu Pro Glu Gln Ala Phe Phe Ala Thr Ala Glu Val Val Arg Asp Arg	
55 60 65	
ctt att caa caa tgg aat gag aca tac cac cat ttt aat aaa gtt gat	296
Leu Ile Gln Gln Trp Asn Glu Thr Tyr His His Phe Asn Lys Val Asp	
70 75 80	
ccg aag caa aca tac tac cta tca atg gaa ttt ctt caa gga agg act	344
Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Thr	
85 90 95	
ttg act aat gca att ggc agt ttg gac att cag aat gca tat gct gat	392
Leu Thr Asn Ala Ile Gly Ser Leu Asp Ile Gln Asn Ala Tyr Ala Asp	
100 105 110 115	

gct tta aat aat ttg ggg cat gtc ctt gag gag ata gct gaa cag gaa 440
 Ala Leu Asn Asn Leu Gly His Val Leu Glu Glu Ile Ala Glu Gln Glu
 120 125 130

aaa gat gct gca cta gga aat ggt ggg ctg ggc agg cta gct tca tgc 488
 Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys
 135 140 145

ttc tta gac tcc atg gca aca ttg aat ttg cct gca tgg ggt tat ggt 536
 Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly
 150 155 160

ttg aga tac cgg tat ggg ctg ttc aag cag aag atc acc aag cag ggt 584
 Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Lys Ile Thr Lys Gln Gly
 165 170 175

caa gaa gaa gtt gct gaa gat tgg ctt gag aaa ttt agt cct tgg gaa 632
 Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu
 180 185 190 195

gtt gtc agg cat gat gtg gta ttt ccg gtc aga ttt ttt ggg agt gtt 680
 Val Val Arg His Asp Val Val Phe Pro Val Arg Phe Phe Gly Ser Val
 200 205 210

atg gtt aat cca aat gga acg aga aaa tgg gtt ggg ggt gaa gtt gtc 728
 Met Val Asn Pro Asn Gly Thr Arg Lys Trp Val Gly Gly Glu Val Val
 215 220 225

caa gcc gta gct tat gat ata cca att cca ggg tac aaa acc aag aac 776

Gln Ala Val Ala Tyr Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn
 230 235 240

act atc agt ctt cgt ctc tgg gac gct aaa gct agc gct gag gat ttc 824
 Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp Ala Lys Ala Ser Ala Glu Asp Phe
 245 250 255

aat tta ttt cag ttt aat gat gga caa tac gaa tct gct gca cag ctt 872
 Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly Gln Tyr Glu Ser Ala Ala Gln Leu
 260 265 270 275

cat tct cga gct caa cag att tgt gct gtg ctc tac ccc ggg gat tct 920
 His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ser
 280 285 290

act gaa gaa ggg aag ctt tta agg ctg aaa caa caa ttc ttt ctc tgc 968
 Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Phe Phe Leu Cys
 295 300 305

agt gct tca ctt cag gat atg att ctt aga ttc aag gag agg aaa agt 1016
 Ser Ala Ser Leu Gln Asp Met Ile Leu Arg Phe Lys Glu Arg Lys Ser
 310 315 320

gga agg cag tgg tct gaa ttt ccc agc aag gta gct gta caa ctg aat 1064
 Gly Arg Gln Trp Ser Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala Val Gln Leu Asn
 325 330 335

gat act cat cca aca ctt gca att cca gag ttg atg cga ttg cta atg 1112
 Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met

340	345	350	355	
gat gag gaa gga ctt gga tgg gat gaa gca tgg gat ata aca aca agg				1160
Asp Glu Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile Thr Thr Arg				
	360	365	370	
act gtt gct tat acc aat cac aca gta ctt cct gaa gca ctt gag aag				1208
Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys				
	375	380	385	
tgg tca caa gca gta atg tgg aag ctt ctt cct cgc cat atg gaa ata				1256
Trp Ser Gln Ala Val Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile				
	390	395	400	
att gaa gag att gac aag aga ttc att gca atg gtc cgc tcc aca agg				1304
Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Ile Ala Met Val Arg Ser Thr Arg				
	405	410	415	
agt gac ctt gag agt aag att ccc agc atg tgc atc ttg gat aat aat				1352
Ser Asp Leu Glu Ser Lys Ile Pro Ser Met Cys Ile Leu Asp Asn Asn				
420	425	430	435	
ccc aaa aag ccg gtt gtt agg atg gca aac tta tgt gta gta tct gcg				1400
Pro Lys Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ser Ala				
	440	445	450	
cat acg gta aat ggt gtt gct cag ttg cac agt gat atc tta aag gcc				1448
His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp Ile Leu Lys Ala				
	455	460	465	

gac ttg ttc gct gac tat gtt tct cta tgg cca aac aaa ctc caa aat	1496
Asp Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Leu Trp Pro Asn Lys Leu Gln Asn	
470 475 480	
aaa act aat ggc att act cct cgt cga tgg ctc cgg ttt tgc aat cct	1544
Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe Cys Asn Pro	
485 490 495	
gag ctc agc aaa att atc aca aaa tgg tta aaa acc gat cag tgg gtt	1592
Glu Leu Ser Lys Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Gln Trp Val	
500 505 510 515	
acg aac ctt gac ctg ctt gta ggt ctt cgt cag ttt gct gac aac aca	1640
Thr Asn Leu Asp Leu Leu Val Gly Leu Arg Gln Phe Ala Asp Asn Thr	
520 525 530	
gaa ctc caa gct gaa tgg gaa tct gct aag atg gcc agt aag aaa cat	1688
Glu Leu Gln Ala Glu Trp Glu Ser Ala Lys Met Ala Ser Lys Lys His	
535 540 545	
ttg gca gac tac ata tgg cga gta acc ggt gta acg att gat cct aat	1736
Leu Ala Asp Tyr Ile Trp Arg Val Thr Gly Val Thr Ile Asp Pro Asn	
550 555 560	
agc tta ttt gac ata caa gtc aag cgc att cat gaa tac aag aga caa	1784
Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln	
565 570 575	

ctg cta aat att ttg ggc gca atc tac aga tac aag aag ttg aag gag	1832
Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ala Ile Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Glu	
580 585 590 595	
atg agc cct cag gag cgg aag aaa act act cca cgc acc att atg ttt	1880
Met Ser Pro Gln Glu Arg Lys Lys Thr Thr Pro Arg Thr Ile Met Phe	
600 605 610	
gga ggg aaa gca ttt gca aca tat aca aac gca aaa aga ata gta aag	1928
Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Val Lys	
615 620 625	
ttg gtt aat gat gtt ggt gaa gtc gtc aac acc gat cct gag gtc aat	1976
Leu Val Asn Asp Val Gly Glu Val Val Asn Thr Asp Pro Glu Val Asn	
630 635 640	
agt tat ttg aag gtg gta ttt gtt cca aat tac aat gtc tct gtt gcg	2024
Ser Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala	
645 650 655	
gag ttg ctt att cca gga agt gag cta tct cag cat att agc aca gca	2072
Glu Leu Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala	
660 665 670 675	
ggc atg gag gca agt ggc aca agc aac atg aaa ttt tct cta aat ggt	2120
Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser Leu Asn Gly	
680 685 690	
tgc ctc att ata gga aca ttg gat gga gct aat gtg gaa atc agg cag	2168

Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Gln
 695 700 705

gag ata gga gag gag aat ttc ttt ctc ttt ggt gca gga gca gac caa 2216
 Glu Ile Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gly Ala Asp Gln
 710 715 720

gtc cct aag ctg cgg aag gaa aga gaa gat gga ttg ttc aaa cca gat 2264
 Val Pro Lys Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asp Gly Leu Phe Lys Pro Asp
 725 730 735

cct cgg ttt gaa gag gcc aag caa ttt ata aga agt gga gca ttt gga 2312
 Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser Gly Ala Phe Gly
 740 745 750 755

agc tat gac tac aac ccg ctt ctt gat tcc ctg gag ggg aac act ggt 2360
 Ser Tyr Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu Gly Asn Thr Gly
 760 765 770

tat ggt cgt ggt gat tat ttt cta gtt ggt tat gac ttc cca agt tac 2408
 Tyr Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp Phe Pro Ser Tyr
 775 780 785

tta gag gct cag gac aga gtt gac caa gct tac aag gac cgg aag aag 2456
 Leu Glu Ala Gln Asp Arg Val Asp Gln Ala Tyr Lys Asp Arg Lys Lys
 790 795 800

tgg ctg aag atg tct ata tta agt aca gct ggc agt ggg aaa ttc agc 2504
 Trp Leu Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly Ser Gly Lys Phe Ser

805

810

815

agt gat cgc aca att gca cag tat gct aag gaa atc tgg aac ata aca 2552
 Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp Asn Ile Thr
 820 825 830 835

gaa tgc cgt aca tca tga ttcaagtgc aaaaaatttc atgtgcaata 2600
 Glu Cys Arg Thr Ser
 840

ggttatataa tttcttggaa ggatgtatta agatgggaag aaaatgaaag gaaatccaca 2660

atctgtgggg atcattaaat aaacctgtct ctccgtctta accatcattt gtttactcaa 2720

acatcgctct gtcagataag tttaagttg taatttctta aacaattcta tctttataag 2780

aatttccagg ttttgaagaa ttacatcatt tgtcattact gataatagta cgaaggaatt 2840

atgatacacc attttttttt tgtttttaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2884

<210> 22

<211> 840

<212> PRT

<213> Citrus hybrid cultivar

<400> 22

Met Ala Asp Ala Lys Ala Asn Gly Lys Asn Glu Ala Ala Lys Leu Ala

1 5 10 15

Lys Ile Pro Ala Ala Ala Asn Pro Leu Ala Asn Glu Pro Ser Ala Ile
20 25 30

Ala Ser Asn Ile Ser Tyr His Val Gln Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro
35 40 45

Thr Lys Phe Glu Pro Glu Gln Ala Phe Phe Ala Thr Ala Glu Val Val
50 55 60

Arg Asp Arg Leu Ile Gln Gln Trp Asn Glu Thr Tyr His His Phe Asn
65 70 75 80

Lys Val Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln
85 90 95

Gly Arg Thr Leu Thr Asn Ala Ile Gly Ser Leu Asp Ile Gln Asn Ala
100 105 110

Tyr Ala Asp Ala Leu Asn Asn Leu Gly His Val Leu Glu Glu Ile Ala
115 120 125

Glu Gln Glu Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu
 130 135 140

Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp
 145 150 155 160

Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Lys Ile Thr
 165 170 175

Lys Gln Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser
 180 185 190

Pro Trp Glu Val Val Arg His Asp Val Val Phe Pro Val Arg Phe Phe
 195 200 205

Gly Ser Val Met Val Asn Pro Asn Gly Thr Arg Lys Trp Val Gly Gly
 210 215 220

Glu Val Val Gln Ala Val Ala Tyr Asp Ile Pro Ile Pro Gly Tyr Lys
 225 230 235 240

Thr Lys Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp Ala Lys Ala Ser Ala
245 250 255

Glu Asp Phe Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly Gln Tyr Glu Ser Ala
260 265 270

Ala Gln Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ala Val Leu Tyr Pro
275 280 285

Gly Asp Ser Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Phe
290 295 300

Phe Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Met Ile Leu Arg Phe Lys Glu
305 310 315 320

Arg Lys Ser Gly Arg Gln Trp Ser Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala Val
325 330 335

Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg
340 345 350

Leu Leu Met Asp Glu Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile
355 360 365

Thr Thr Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala
370 375 380

Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg His
385 390 395 400

Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Ile Ala Met Val Arg
405 410 415

Ser Thr Arg Ser Asp Leu Glu Ser Lys Ile Pro Ser Met Cys Ile Leu
420 425 430

Asp Asn Asn Pro Lys Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val
435 440 445

Val Ser Ala His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp Ile
450 455 460

Leu Lys Ala Asp Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Leu Trp Pro Asn Lys

Leu Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe
485 490 495

Gln Trp Val Thr Asn Leu Asp Leu Leu Val Gly Leu Arg Gln Phe Ala
515 520 525

Lys Lys His Leu Ala Asp Tyr Ile Trp Arg Val Thr Gly Val Thr Ile
545 550 555 560

Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ala Ile Tyr Arg Tyr Lys Lys
580 585 590

Leu Lys Glu Met Ser Pro Gln Glu Arg Lys Lys Thr Thr Pro Arg Thr
595 600 605

Ile Met Phe Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg
610 615 620

Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val Gly Glu Val Val Asn Thr Asp Pro
625 630 635 640

Glu Val Asn Ser Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val
645 650 655

Ser Val Ala Glu Leu Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile
660 665 670

Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ser
675 680 685

Leu Asn Gly Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu
690 695 700

Ile Arg Gln Glu Ile Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gly
705 710 715 720

Ala Asp Gln Val Pro Lys Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asp Gly Leu Phe
725 730 735

Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser Gly
740 745 750

Ala Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu Gly
755 760 765

Asn Thr Gly Tyr Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp Phe
770 775 780

Pro Ser Tyr Leu Glu Ala Gln Asp Arg Val Asp Gln Ala Tyr Lys Asp
785 790 795 800

Arg Lys Lys Trp Leu Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly Ser Gly
805 810 815

Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp
 820 825 830

Asn Ile Thr Glu Cys Arg Thr Ser
 835 840

<210> 23

<211> 2526

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2526)

<400> 23

atg ccg gag agc aac ggc gcc gcg tgc ggc gcg gcg gag aag gtg aag 48
 Met Pro Glu Ser Asn Gly Ala Ala Cys Gly Ala Ala Glu Lys Val Lys
 1 5 10 15

ccg gcg gcc agc ccc gcg tcg gag gag ccg gcc gcc atc gcc ggt aac 96
 Pro Ala Ala Ser Pro Ala Ser Glu Glu Pro Ala Ala Ile Ala Gly Asn
 20 25 30

atc tcc ttc cac gcg cag tac agc ccc cac ttc tcg ccg ctc gcg ttc 144
 Ile Ser Phe His Ala Gln Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro Leu Ala Phe

35	40	45	
ggc ccc gag cag gcc ttc tac tcc acc gcc gag agc gtc cgc gat cac			192
Gly Pro Glu Gln Ala Phe Tyr Ser Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp His			
50	55	60	
ctc gtc cag aga tgg aac gag acg tac ttg cat ttc cac aag acg gat			240
Leu Val Gln Arg Trp Asn Glu Thr Tyr Leu His Phe His Lys Thr Asp			
65	70	75	80
ccg aag cag acg tac tac ctc tcc atg gag tac ctg cag ggc cgc gcg			288
Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg Ala			
85	90	95	
ctc acc aac gcc gtc ggc aac ctc ggc atc acc ggc gcc tac gcg gag			336
Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Gly Ile Thr Gly Ala Tyr Ala Glu			
100	105	110	
gcc gtg aag aag ttc ggg tac gag ctc gag gcc ctc gtc ggg cag gaa			384
Ala Val Lys Lys Phe Gly Tyr Glu Leu Glu Ala Leu Val Gly Gln Glu			
115	120	125	
aaa gat gca gct ctg gga aat ggt ggc ttg ggt agg ctc gca tct tgc			432
Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys			
130	135	140	
ttt ttg gat tcg atg gca aca cta aat ttg cct gct tgg gga tat ggt			480
Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly			
145	150	155	160

ctg cgg tac cga tat ggt cta ttc aaa caa tgc atc acc aag gaa ggc 528
 Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Cys Ile Thr Lys Glu Gly
 165 170 175

cag gaa gaa att gct gaa gat tgg ctt gag aag ttc agc cca tgg gaa 576
 Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu
 180 185 190

att gtc agg cat gac att gta tac cca atc aga ttt ttt ggc cac gtt 624
 Ile Val Arg His Asp Ile Val Tyr Pro Ile Arg Phe Phe Gly His Val
 195 200 205

gag att ttg cca gat gga tct cgt aaa tgg gtg ggg gga gaa gtt ctc 672
 Glu Ile Leu Pro Asp Gly Ser Arg Lys Trp Val Gly Gly Glu Val Leu
 210 215 220

aat gct tta gca tat gat gtg cca att cct ggg tac aag aca aaa aat 720
 Asn Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn
 225 230 235 240

gca atc agt ctt cgt ctt tgg gac gca aaa gct agt gcg gag gat ttt 768
 Ala Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp Ala Lys Ala Ser Ala Glu Asp Phe
 245 250 255

aac tta ttt caa ttc aat gat ggc cag tat gag tcc gct gct caa ctt 816
 Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly Gln Tyr Glu Ser Ala Ala Gln Leu
 260 265 270

cat gct agg gca caa cag ata tgt gcc gtt ctc tat ccc ggt gat gct 864
 His Ala Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala
 275 280 285

aca gaa gaa gga aag ctt ctc aga ctg aag caa cag tat ttc ctt tgc 912
 Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Phe Leu Cys
 290 295 300

agt gca tcg ctt cag gat att ttt ttc agg ttt aaa gaa agg aaa gct 960
 Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Phe Phe Arg Phe Lys Glu Arg Lys Ala
 305 310 315 320

gac aga gtt tct ggg aaa tgg agt gag ttc cct gca aaa gtt gct gtt 1008
 Asp Arg Val Ser Gly Lys Trp Ser Glu Phe Pro Ala Lys Val Ala Val
 325 330 335

caa ttg aat gac act cac cca act ctt gcg att cct gag ctg atg agg 1056
 Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg
 340 345 350

cta ctc atg gat gtg gag gga ctt ggt tgg gat gaa gca tgg gat atc 1104
 Leu Leu Met Asp Val Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile
 355 360 365

aca aat aaa aca att gcc tac acc aat cac act gtt ctt cct gaa gcc 1152
 Thr Asn Lys Thr Ile Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala
 370 375 380

ctt gag aaa tgg tcg cag att gta atg agg aaa tta ctt cca cga cac 1200

Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ile Val Met Arg Lys Leu Leu Pro Arg His
 385 390 395 400

atg gaa att atc gag gaa att gac aag cgg ttc aag gaa atg gta atc 1248
 Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Lys Glu Met Val Ile
 405 410 415

tcc acc cgg aag gaa atg gag gga aag att gac tcc atg aga atc tta 1296
 Ser Thr Arg Lys Glu Met Glu Gly Lys Ile Asp Ser Met Arg Ile Leu
 420 425 430

gac aac tca aat cct cag aag cca gta gtg cgc atg gca aat ttg tgc 1344
 Asp Asn Ser Asn Pro Gln Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys
 435 440 445

gta gtg tct gcc cat acg gtg aat gga gtg gct gag tta cac agc aac 1392
 Val Val Ser Ala His Thr Val Asn Gly Val Ala Glu Leu His Ser Asn
 450 455 460

att ttg aag gaa gag ctt ttt gca gac tat ctc tct ata tgg ccc aac 1440
 Ile Leu Lys Glu Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Leu Ser Ile Trp Pro Asn
 465 470 475 480

aaa ttt cag aac aaa aca aat gga att aca cct cgt aga tgg ctc cgt 1488
 Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg
 485 490 495

ttc tgc aac cca gag ttg agt gaa ata gta aca aaa tgg cta aaa aca 1536
 Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Glu Ile Val Thr Lys Trp Leu Lys Thr

500	505	510	
gat cag tgg aca agc aac ctt gat ctt ctt acc gga ctt cgg aaa ttt			1584
Asp Gln Trp Thr Ser Asn Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Lys Phe			
515	520	525	
gca gat gat gaa aag ctt cat gct gag tgg gca tca gct aag ttg gct			1632
Ala Asp Asp Glu Lys Leu His Ala Glu Trp Ala Ser Ala Lys Leu Ala			
530	535	540	
agc aaa aaa cgc cta gcc aag cat gtg ttg gat gtg aca ggt gtt aca			1680
Ser Lys Lys Arg Leu Ala Lys His Val Leu Asp Val Thr Gly Val Thr			
545	550	555	560
atc gac cca aat agc ctt ttt gat ata caa att aaa cgc att cat gag			1728
Ile Asp Pro Asn Ser Leu Phe Asp Ile Gln Ile Lys Arg Ile His Glu			
565	570	575	
tac aag aga cag ctg cta aac att ttg gga gct gtt tac aga tac aag			1776
Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ala Val Tyr Arg Tyr Lys			
580	585	590	
aag tta aag gga atg agt gca gag gag aga caa aaa gtt acg cca cgc			1824
Lys Leu Lys Gly Met Ser Ala Glu Glu Arg Gln Lys Val Thr Pro Arg			
595	600	605	
act gtc atg ata ggg gga aaa gca ttc gcg act tac acc aat gcc aaa			1872
Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys			
610	615	620	

aga ata gta aaa ttg gta aat gat gtt ggt gct gtg gtg aac aat gat	1920
Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val Gly Ala Val Val Asn Asn Asp	
625 630 635 640	
cct gat gtt aat aaa tac cta aag gtg gtg ttc att ccc aac tac aat	1968
Pro Asp Val Asn Lys Tyr Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asn Tyr Asn	
645 650 655	
gta tct gtg gcc gag gtg ctc att cct ggg agt gaa ctg tca cag cac	2016
Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His	
660 665 670	
atc agt acc gca ggc atg gaa gca agt gga acg agt aat atg aaa ttc	2064
Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe	
675 680 685	
tct ctg aat ggt tgt gtt atc att ggt act ctt gat gga gct aat gtt	2112
Ser Leu Asn Gly Cys Val Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val	
690 695 700	
gag ata aga gag gaa gtg gga caa gaa aat ttc ttc ctt ttt ggt gcc	2160
Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Gln Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala	
705 710 715 720	
aag gca gat caa gtt gct ggg ctg agg aag gat aga gag aat ggc ttg	2208
Lys Ala Asp Gln Val Ala Gly Leu Arg Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu	
725 730 735	

ttc aaa cca gac cca cgt ttt gaa gaa gcc aag cag ctt ata agg agt 2256
 Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Leu Ile Arg Ser
 740 745 750

ggt gct ttt ggc acc tat gac tat gct ccc ctc ttg gat tct ctt gaa 2304
 Gly Ala Phe Gly Thr Tyr Asp Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu
 755 760 765

gga aat tct gga ttt ggt cgt ggt gat tat ttc ctc gtt ggc tat gat 2352
 Gly Asn Ser Gly Phe Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp
 770 775 780

ttc cca agc tat att gat gca cag gcc cag gtt gat gaa gcc tac aag 2400
 Phe Pro Ser Tyr Ile Asp Ala Gln Ala Gln Val Asp Glu Ala Tyr Lys
 785 790 795 800

gat aag aaa aaa tgg atc aag atg tct ata ctg aac aca gct gga agt 2448
 Asp Lys Lys Lys Trp Ile Lys Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser
 805 810 815

ggc aaa ttc agc agc gac cgt act atc gct cag tat gca aag gaa ata 2496
 Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile
 820 825 830

tgg ggc att act gct agc cct gtc tcc taa 2526
 Trp Gly Ile Thr Ala Ser Pro Val Ser
 835 840

<210> 24

<211> 841

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 24

Met Pro Glu Ser Asn Gly Ala Ala Cys Gly Ala Ala Glu Lys Val Lys
1 5 10 15

Pro Ala Ala Ser Pro Ala Ser Glu Glu Pro Ala Ala Ile Ala Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Phe His Ala Gln Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro Leu Ala Phe
35 40 45

Gly Pro Glu Gln Ala Phe Tyr Ser Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp His
50 55 60

Leu Val Gln Arg Trp Asn Glu Thr Tyr Leu His Phe His Lys Thr Asp
65 70 75 80

Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg Ala
85 90 95

Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Gly Ile Thr Gly Ala Tyr Ala Glu
 100 105 110

Ala Val Lys Lys Phe Gly Tyr Glu Leu Glu Ala Leu Val Gly Gln Glu
 115 120 125

Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys
 130 135 140

Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly
 145 150 155 160

Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Cys Ile Thr Lys Glu Gly
 165 170 175

Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu
 180 185 190

Ile Val Arg His Asp Ile Val Tyr Pro Ile Arg Phe Phe Gly His Val
 195 200 205

Glu Ile Leu Pro Asp Gly Ser Arg Lys Trp Val Gly Gly Glu Val Leu
210 215 220

Asn Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn
225 230 235 240

Ala Ile Ser Leu Arg Leu Trp Asp Ala Lys Ala Ser Ala Glu Asp Phe
245 250 255

Asn Leu Phe Gln Phe Asn Asp Gly Gln Tyr Glu Ser Ala Ala Gln Leu
260 265 270

His Ala Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala
275 280 285

Thr Glu Glu Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Phe Leu Cys
290 295 300

Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Phe Phe Arg Phe Lys Glu Arg Lys Ala
305 310 315 320

Asp Arg Val Ser Gly Lys Trp Ser Glu Phe Pro Ala Lys Val Ala Val
325 330 335

Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met Arg
340 345 350

Leu Leu Met Asp Val Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile
355 360 365

Thr Asn Lys Thr Ile Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala
370 375 380

Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ile Val Met Arg Lys Leu Leu Pro Arg His
385 390 395 400

Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Lys Glu Met Val Ile
405 410 415

Ser Thr Arg Lys Glu Met Glu Gly Lys Ile Asp Ser Met Arg Ile Leu
420 425 430

Asp Asn Ser Asn Pro Gln Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys

435

440

445

Val Val Ser Ala His Thr Val Asn Gly Val Ala Glu Leu His Ser Asn

450

455

460

Ile Leu Lys Glu Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Leu Ser Ile Trp Pro Asn

465

470

475

480

Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg

485

490

495

Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Glu Ile Val Thr Lys Trp Leu Lys Thr

500

505

510

Asp Gln Trp Thr Ser Asn Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Lys Phe

515

520

525

Ala Asp Asp Glu Lys Leu His Ala Glu Trp Ala Ser Ala Lys Leu Ala

530

535

540

Ser Lys Lys Arg Leu Ala Lys His Val Leu Asp Val Thr Gly Val Thr

545

550

555

560

Ile Asp Pro Asn Ser Leu Phe Asp Ile Gln Ile Lys Arg Ile His Glu
565 570 575

Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Ala Val Tyr Arg Tyr Lys
580 585 590

Lys Leu Lys Gly Met Ser Ala Glu Glu Arg Gln Lys Val Thr Pro Arg
595 600 605

Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys
610 615 620

Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val Gly Ala Val Val Asn Asn Asp
625 630 635 640

Pro Asp Val Asn Lys Tyr Leu Lys Val Val Phe Ile Pro Asn Tyr Asn
645 650 655

Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His
660 665 670

Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe
675 680 685

Ser Leu Asn Gly Cys Val Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val
690 695 700

Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Gln Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala
705 710 715 720

Lys Ala Asp Gln Val Ala Gly Leu Arg Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu
725 730 735

Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Leu Ile Arg Ser
740 745 750

Gly Ala Phe Gly Thr Tyr Asp Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu
755 760 765

Gly Asn Ser Gly Phe Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp
770 775 780

Phe Pro Ser Tyr Ile Asp Ala Gln Ala Gln Val Asp Glu Ala Tyr Lys
785 790 795 800

Asp Lys Lys Lys Trp Ile Lys Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser
805 810 815

Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile
820 825 830

Trp Gly Ile Thr Ala Ser Pro Val Ser
835 840

<210> 25

<211> 2910

<212> DNA

<213> Vicia faba

<220>

<221> CDS

<222> (155)..(2683)

<400> 25

tcattctcaca ctccatgag gtagcaattc cattccttca aatatcttca catatgcttc 60

caaatccaga ttcttttttaa tctctttttt tttccatttc ttcaaacaac tcgttttcggt 120

gctacctttc ttactctca taaggatttg aaaa atg ggt ttt aaa gta gaa act 175

Met Gly Phe Lys Val Glu Thr

1

5

aat ggt ggt gat ggt tct tta gtt tct gct aaa gtt cca cct ctg gct 223

Asn Gly Gly Asp Gly Ser Leu Val Ser Ala Lys Val Pro Pro Leu Ala

10

15

20

aat cca ttg gct gaa aaa cct gat gag att gct tct aac atc agt tat 271

Asn Pro Leu Ala Glu Lys Pro Asp Glu Ile Ala Ser Asn Ile Ser Tyr

25

30

35

cat gct cag tat act cct cat ttt tca cct ttc aaa ttt cag ctt caa 319

His Ala Gln Tyr Thr Pro His Phe Ser Pro Phe Lys Phe Gln Leu Gln

40

45

50

55

caa gct tac tat gca act gca gag agt gtt cgt gat cgt ctc att cag 367

Gln Ala Tyr Tyr Ala Thr Ala Glu Ser Val Arg Asp Arg Leu Ile Gln

60

65

70

caa tgg aat gaa aca tac tta cat ttt cac aaa gtt gat ccc aag caa 415

Gln Trp Asn Glu Thr Tyr Leu His Phe His Lys Val Asp Pro Lys Gln

75	80	85	
aca tac tac tta tca atg gag ttc ctt caa ggt cga gct ttg acc aat			463
Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn			
90	95	100	
gcc att gga aat ctc aat atc caa gat gca tat gct gat gct ttg cgc			511
Ala Ile Gly Asn Leu Asn Ile Gln Asp Ala Tyr Ala Asp Ala Leu Arg			
105	110	115	
aaa ttt gga ctt gaa ctt gaa gaa ata aca gag cag gag aag gat gca			559
Lys Phe Gly Leu Glu Leu Glu Glu Ile Thr Glu Gln Glu Lys Asp Ala			
120	125	130	135
gca cta gga aat ggt ggt ctt ggt agg ctt gct tct tgc ttt ctg gat			607
Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp			
140	145	150	
tcc atg gca aca ctt aat ttg cct gct tgg ggg tac ggt ttg agg tat			655
Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr			
155	160	165	
cgg tac gga cta ttt aag cag ata atc aca aaa gaa ggt cag gag gaa			703
Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile Thr Lys Glu Gly Gln Glu Glu			
170	175	180	
gtt gct gag gac tgg ctt gag aag ttt agc cct tgg gaa att gtg agg			751
Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu Ile Val Arg			
185	190	195	

cat gac gtt ttg tac ccg atc aga ttc ttt ggc cag gtt gag gtt aac	799
His Asp Val Leu Tyr Pro Ile Arg Phe Phe Gly Gln Val Glu Val Asn	
200 205 210 215	
cct gat gga agc cga caa tgg ata ggc gga gaa gtt att caa gca cta	847
Pro Asp Gly Ser Arg Gln Trp Ile Gly Gly Glu Val Ile Gln Ala Leu	
220 225 230	
gct tat gat gtg ccg att cct gga tac cag acc aag aac acc atc agt	895
Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Gln Thr Lys Asn Thr Ile Ser	
235 240 245	
ctt cgc ctc tgg gaa gcg aaa gca tgc gct gat gat ttc gat ttg ttt	943
Leu Arg Leu Trp Glu Ala Lys Ala Cys Ala Asp Asp Phe Asp Leu Phe	
250 255 260	
tta ttc aac gat ggg caa ctt gaa tct gct tca gtt ctt cac tca cga	991
Leu Phe Asn Asp Gly Gln Leu Glu Ser Ala Ser Val Leu His Ser Arg	
265 270 275	
gcg caa cag att tgc tcg gtt ttg tat cct ggt gat gcc aca gaa ggt	1039
Ala Gln Gln Ile Cys Ser Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala Thr Glu Gly	
280 285 290 295	
ggg aaa ctc cta cgg ctg aag cag cag tac ttt ctc tgc agt gca tca	1087
Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Phe Leu Cys Ser Ala Ser	
300 305 310	

ctc caa gac ata att tcc cga ttc aag gag agg agg caa gga cct tgg	1135
Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe Lys Glu Arg Arg Gln Gly Pro Trp	
315 320 325	
aac tgg tct gag ttc cca aca aag gtt gct gta caa ttg aac gat acc	1183
Asn Trp Ser Glu Phe Pro Thr Lys Val Ala Val Gln Leu Asn Asp Thr	
330 335 340	
cac cca acc ctt tca ata ccg gag ttg atg cga tta cta atg gat gat	1231
His Pro Thr Leu Ser Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met Asp Asp	
345 350 355	
gaa ggg ctt gga tgg gat gaa gca tgg gct gtg aca tca aag aca gtt	1279
Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Ala Val Thr Ser Lys Thr Val	
360 365 370 375	
gct tac act aat cac act gtc ctc cct gaa gcg ctg gag aaa tgg tct	1327
Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser	
380 385 390	
caa cct gtt atg tgg aaa ctg ctt cct cgt cac atg gaa atc ata gag	1375
Gln Pro Val Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile Ile Glu	
395 400 405	
gaa atc gac aga cga ttc gtt gca ttg ata agt aaa acc cgt ttg gac	1423
Glu Ile Asp Arg Arg Phe Val Ala Leu Ile Ser Lys Thr Arg Leu Asp	
410 415 420	
ctt gag gac gaa gtt tcc aac atg cgc att tta gac aat aat ctt cag	1471

Leu Glu Asp Glu Val Ser Asn Met Arg Ile Leu Asp Asn Asn Leu Gln
 425 430 435

aaa cca gta gtt cgg atg gcg aat ttg tgt gtt gtt tct tct cat act 1519
 Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ser Ser His Thr
 440 445 450 455

gtg aat ggt gtt gcc cag tta cac agt gat ata ttg aag tca gaa tta 1567
 Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp Ile Leu Lys Ser Glu Leu
 460 465 470

ttt gca agt tat gtt tca ata tgg cca aca aaa ttc caa aat aaa act 1615
 Phe Ala Ser Tyr Val Ser Ile Trp Pro Thr Lys Phe Gln Asn Lys Thr
 475 480 485

aat ggc att acg cct cga aga tgg atc aat ttc tgc agt cct gag cta 1663
 Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Ile Asn Phe Cys Ser Pro Glu Leu
 490 495 500

agc agg ata atc aca aag tgg tta aaa act gat aaa tgg gta acc aat 1711
 Ser Arg Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Lys Trp Val Thr Asn
 505 510 515

ctt gac cta tta aca ggt ctt cgt gag ttt gct gac aac gaa gat cta 1759
 Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Glu Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu
 520 525 530 535

caa gca gag tgg ctg tct gca aag agg gct aat aag cag cgc tta gca 1807
 Gln Ala Glu Trp Leu Ser Ala Lys Arg Ala Asn Lys Gln Arg Leu Ala

540	545	550	
cag tat gtt ctg caa gtg aca ggg gag aac att gac cct gat agt cta			1855
Gln Tyr Val Leu Gln Val Thr Gly Glu Asn Ile Asp Pro Asp Ser Leu			
555	560	565	
ttt gac att caa gtc aag cgt atc cac gaa tac aag agg cag ctg cta			1903
Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu			
570	575	580	
aac att ctt ggt gtg atc tat aga tat aaa aag tta aag gag atg agc			1951
Asn Ile Leu Gly Val Ile Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Glu Met Ser			
585	590	595	
cct gaa gaa cgg aaa agt aca act gca cgc acg gtc atg att gga gga			1999
Pro Glu Glu Arg Lys Ser Thr Thr Ala Arg Thr Val Met Ile Gly Gly			
600	605	610	615
aag gca ttt gca acg tac aca aat gct aaa cgg ata gtc aag ctt gtc			2047
Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Val Lys Leu Val			
620	625	630	
gat gat gtt ggt tct gtt gta aac agt gat cct gaa gtc aat agc tac			2095
Asp Asp Val Gly Ser Val Val Asn Ser Asp Pro Glu Val Asn Ser Tyr			
635	640	645	
ttg aag gtt gtg ttt gtg cca aat tac aac gta tca gtg gcg gag gtg			2143
Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val			
650	655	660	

ctt atc cca ggg agc gag cta tcg cag cat atc agc act gca gga atg 2191
Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly Met
665 670 675

gaa gca agt ggc acg agc aac atg aaa ttt gct ttg aac cgg gtg ctt 2239
Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Leu Asn Arg Val Leu
680 685 690 695

ata ata ggt aca tta gat gga gct aat gtc gaa atc cgg gag gag att 2287
Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu Glu Ile
700 705 710

ggt gag gag aat ttt ttc ctg ttt ggt gca aca gcg gat gaa gtc cct 2335
Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Thr Ala Asp Glu Val Pro
715 720 725

cga ctc agg aag gaa aga gag aat gga ctg ttc aag ccg gat cct cga 2383
Arg Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asn Gly Leu Phe Lys Pro Asp Pro Arg
730 735 740

ttc gaa gag gca aag aag ttt ata agg agt ggg gtg ttt gga agc tac 2431
Phe Glu Glu Ala Lys Lys Phe Ile Arg Ser Gly Val Phe Gly Ser Tyr
745 750 755

gac tac aac cca ttg ctc gat tca ttg gaa gga aat tct ggt tat ggt 2479
Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu Gly Asn Ser Gly Tyr Gly
760 765 770 775

cgc gga gat tac ttt ctt gtt ggt tat gac ttc cca agc tac atg gat	2527
Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp Phe Pro Ser Tyr Met Asp	
780 785 790	
gct cag gaa aaa gta gac gaa gca tat cgt gat aag aaa agg tgg cta	2575
Ala Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Lys Lys Arg Trp Leu	
795 800 805	
aaa atg tct att tta agc act gct ggg agt ggg aag ttc agc agt gac	2623
Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly Ser Gly Lys Phe Ser Ser Asp	
810 815 820	
agg aca att gct cag tat gct aag gaa att tgg aac atc gaa gaa tgc	2671
Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp Asn Ile Glu Glu Cys	
825 830 835	
cgg gta cca taa tttcaaggct ctgtatagta ctagagcatt gaaattaatg	2723
Arg Val. Pro	
840	
acagtatata gtcataaata aaaaagaaca taattttcta tatttgattt tagtatgcca	2783
tatcagggtt caactgtatt attattatag taagtgtcgt ttctctcgat gcatctgctt	2843
ctacattatg aaaatatatt tgtatcatga tatttttttat attgggtttaa tttcaattca	2903
atctttcc	2910

<210> 26
<211> 842
<212> PRT
<213> Vicia faba

<400> 26

Met Gly Phe Lys Val Glu Thr Asn Gly Gly Asp Gly Ser Leu Val Ser
1 5 10 15

Ala Lys Val Pro Pro Leu Ala Asn Pro Leu Ala Glu Lys Pro Asp Glu
 20 25 30

Ile Ala Ser Asn Ile Ser Tyr His Ala Gln Tyr Thr Pro His Phe Ser
 35 40 45

Pro Phe Lys Phe Gln Leu Gln Gln Ala Tyr Tyr Ala Thr Ala Glu Ser
 50 55 60

Val Arg Asp Arg Leu Ile Gln Gln Trp Asn Glu Thr Tyr Leu His Phe
65 70 75 80

His Lys Val Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu
 85 90 95

Gln Gly Arg Ala Leu Thr Asn Ala Ile Gly Asn Leu Asn Ile Gln Asp
100 105 110

Ala Tyr Ala Asp Ala Leu Arg Lys Phe Gly Leu Glu Leu Glu Glu Ile
115 120 125

Thr Glu Gln Glu Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg
130 135 140

Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala
145 150 155 160

Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile
165 170 175

Thr Lys Glu Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe
180 185 190

Ser Pro Trp Glu Ile Val Arg His Asp Val Leu Tyr Pro Ile Arg Phe
195 200 205

Phe Gly Gln Val Glu Val Asn Pro Asp Gly Ser Arg Gln Trp Ile Gly
210 215 220

Gly Glu Val Ile Gln Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr
225 230 235 240

Gln Thr Lys Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala Lys Ala Cys
245 250 255

Ala Asp Asp Phe Asp Leu Phe Leu Phe Asn Asp Gly Gln Leu Glu Ser
260 265 270

Ala Ser Val Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ser Val Leu Tyr
275 280 285

Pro Gly Asp Ala Thr Glu Gly Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln
290 295 300

Tyr Phe Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe Lys
305 310 315 320

Glu Arg Arg Gln Gly Pro Trp Asn Trp Ser Glu Phe Pro Thr Lys Val
325 330 335

Ala Val Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ser Ile Pro Glu Leu
340 345 350

Met Arg Leu Leu Met Asp Asp Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp
355 360 365

Ala Val Thr Ser Lys Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro
370 375 380

Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Pro Val Met Trp Lys Leu Leu Pro
385 390 395 400

Arg His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Arg Arg Phe Val Ala Leu
405 410 415

Ile Ser Lys Thr Arg Leu Asp Leu Glu Asp Glu Val Ser Asn Met Arg
420 425 430

Ile Leu Asp Asn Asn Leu Gln Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu

435

440

445

Cys Val Val Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser

450

455

460

Asp Ile Leu Lys Ser Glu Leu Phe Ala Ser Tyr Val Ser Ile Trp Pro

465

470

475

480

Thr Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Ile

485

490

495

Asn Phe Cys Ser Pro Glu Leu Ser Arg Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys

500

505

510

Thr Asp Lys Trp Val Thr Asn Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Glu

515

520

525

Phe Ala Asp Asn Glu Asp Leu Gln Ala Glu Trp Leu Ser Ala Lys Arg

530

535

540

Ala Asn Lys Gln Arg Leu Ala Gln Tyr Val Leu Gln Val Thr Gly Glu

545

550

555

560

Asn Ile Asp Pro Asp Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His

565

570

575

Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Val Ile Tyr Arg Tyr

580

585

590

Lys Lys Leu Lys Glu Met Ser Pro Glu Glu Arg Lys Ser Thr Thr Ala

595

600

605

Arg Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala

610

615

620

Lys Arg Ile Val Lys Leu Val Asp Asp Val Gly Ser Val Val Asn Ser

625

630

635

640

Asp Pro Glu Val Asn Ser Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr

645

650

655

Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln

660

665

670

His Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys
675 680 685

Phe Ala Leu Asn Arg Val Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn
690 695 700

Val Glu Ile Arg Glu Glu Ile Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly
705 710 715 720

Ala Thr Ala Asp Glu Val Pro Arg Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asn Gly
725 730 735

Leu Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Lys Phe Ile Arg
740 745 750

Ser Gly Val Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Asp Ser Leu
755 760 765

Glu Gly Asn Ser Gly Tyr Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr
770 775 780

Asp Phe Pro Ser Tyr Met Asp Ala Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr
785 790 795 800

Arg Asp Lys Lys Arg Trp Leu Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly
805 810 815

Ser Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu
820 825 830

Ile Trp Asn Ile Glu Glu Cys Arg Val Pro
835 840

<210> 27

<211> 2526

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

$\langle 220 \rangle$

<221> CDS

<222> (1)..(2526)

<400> 27

atg gca aac gcc aat gga aaa gct gcg act agt tta ccg gag aaa atc 48
Met Ala Asn Ala Asn Gly Lys Ala Ala Thr Ser Leu Pro Glu Lys Ile

1	5	10	15	
tcg gct aag gcg aat ccg gag gcc gat gat gct acg gag atc gct ggg				96
Ser Ala Lys Ala Asn Pro Glu Ala Asp Asp Ala Thr Glu Ile Ala Gly				
20	25	30		
aat atc gtc tac cac gcc aag tac agt cca cat ttc tct cca ttg aag				144
Asn Ile Val Tyr His Ala Lys Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro Leu Lys				
35	40	45		
ttc ggg cct gag caa gct ctc tac gct acc gca gag agt ctt cgc gat				192
Phe Gly Pro Glu Gln Ala Leu Tyr Ala Thr Ala Glu Ser Leu Arg Asp				
50	55	60		
cgt ctc att cag ctg tgg aat gag act tat gtt cat ttt aac aaa gtt				240
Arg Leu Ile Gln Leu Trp Asn Glu Thr Tyr Val His Phe Asn Lys Val				
65	70	75	80	
gat cca aaa caa act tat tac ttg tca atg gag tat ctc caa ggt cgt				288
Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg				
85	90	95		
gct ttg acc aat gcc att ggg aat ttg aac ctt caa ggt cca tat gct				336
Ala Leu Thr Asn Ala Ile Gly Asn Leu Asn Leu Gln Gly Pro Tyr Ala				
100	105	110		
gat gca ctg cgt acg ctg ggt tat gag ctt gag gag ata gct gag cag				384
Asp Ala Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Ile Ala Glu Gln				
115	120	125		

gag aaa gat gca gct cta gga aat ggt ggg tta ggg aga ctt gcc tcg 432

Glu Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser

130

135

140

tgt ttc ttg gat tcg atg gcc acc cta aat ctg cct gct tgg ggt tat 480

Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr

145

150

155

160

ggt ttg agg tac aga cat ggg ttg ttt aag caa ata atc aca aag aaa 528

Gly Leu Arg Tyr Arg His Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile Thr Lys Lys

165

170

175

ggt caa gaa gag att cca gag gac tgg ctt gag aaa ttc agc cca tgg 576

Gly Gln Glu Glu Ile Pro Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp

180

185

190

gaa att gtg agg cac gac gtg gta ttc cct gtc aga ttt ttc ggc aag 624

Glu Ile Val Arg His Asp Val Val Phe Pro Val Arg Phe Phe Gly Lys

195

200

205

gtg caa gta aat ccg gat gga tca agg aaa tgg gta gat ggt gat gtt 672

Val Gln Val Asn Pro Asp Gly Ser Arg Lys Trp Val Asp Gly Asp Val

210

215

220

gta caa gct ctt gct tat gac gtg cca atc ccg gga tat ggc aca aag 720

Val Gln Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Gly Thr Lys

225

230

235

240

aac aca atc agt ctc cgt ctc tgg gaa gca aaa gct aga gct gag gat 768

Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala Lys Ala Arg Ala Glu Asp

245

250

255

ctt gat ctt ttt cag ttc aac gaa gga gaa tat gaa ttg gct gca cag 816

Leu Asp Leu Phe Gln Phe Asn Glu Gly Glu Tyr Glu Leu Ala Ala Gln

260

265

270

ctt cat tct cga gct caa cag att tgc act gtt tta tat cca gga gat 864

Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Thr Val Leu Tyr Pro Gly Asp

275

280

285

gct acc gag aat ggg aag tta tta cgg tta aaa cag cag ttc ttt ctc 912

Ala Thr Glu Asn Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Phe Phe Leu

290

295

300

tgc agt gct tcg ctt cag gat att ata tca aga ttt cac gag agg agc 960

Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe His Glu Arg Ser

305

310

315

320

acc act gaa ggc agc cgg aaa tgg tca gag ttt cca agt aaa gtt gct 1008

Thr Thr Glu Gly Ser Arg Lys Trp Ser Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala

325

330

335

gtt caa atg aat gac aca cac cca act ctt gca ata cct gag ctc atg 1056

Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met

340

345

350

cga ttg cta atg gat gac aat gga ctt gga tgg gat gag gct tgg gat 1104
 Arg Leu Leu Met Asp Asp Asn Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp
 355 360 365

gtg aca tca aag acc gtt gct tac acc aat cac act gtc ctt cct gaa 1152
 Val Thr Ser Lys Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu
 370 375 380

gcg ttg gag aaa tgg tca caa tct ttg atg tgg aag ctt ctt cct cgt 1200
 Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ser Leu Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg
 385 390 395 400

cat atg gaa ata ata gaa gag att gac aag agg ttt gtt caa acc att 1248
 His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Val Gln Thr Ile
 405 410 415

cgc gat aca aga gtt gat ctg gag gat aag att tca agt ttg agc atc 1296
 Arg Asp Thr Arg Val Asp Leu Glu Asp Lys Ile Ser Ser Leu Ser Ile
 420 425 430

tta gat aac aat cca caa aag cct gtg gtg aga atg gct aac tta tgt 1344
 Leu Asp Asn Asn Pro Gln Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys
 435 440 445

gtt gta tcc tcg cat acg gtg aat ggc gtt gct cag tta cac agt gat 1392
 Val Val Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp
 450 455 460

atc ttg aag gct gag tta ttc gca gac tat gtc tct ata tgg cca aac 1440

Ile Leu Lys Ala Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Ile Trp Pro Asn	
465	470 475 480
aag ttt caa aac aag act aat ggc atc aca cct cga agg tgg tta cgt	1488
Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg	
485 490 495	
ttc tgc agc cct gag ctc agt gat ata atc aca aag tgg tta aag act	1536
Phe Cys Ser Pro Glu Leu Ser Asp Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr	
500 505 510	
gac aaa tgg att acc gat ctt gac cta ctt acc ggt ctt cgc cag ttt	1584
Asp Lys Trp Ile Thr Asp Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Gln Phe	
515 520 525	
gcg gac aat gaa gaa ctc caa tct gaa tgg gct tct gca aag aca gcc	1632
Ala Asp Asn Glu Glu Leu Gln Ser Glu Trp Ala Ser Ala Lys Thr Ala	
530 535 540	
aat aag aaa cgt ttg gct caa tat ata gag cgt gtg act ggt gtg agt	1680
Asn Lys Lys Arg Leu Ala Gln Tyr Ile Glu Arg Val Thr Gly Val Ser	
545 550 555 560	
atc gat cca aca agc tta ttt gac ata caa gtt aag cgt atc cac gaa	1728
Ile Asp Pro Thr Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu	
565 570 575	
tac aag agg cag ctg atg aac att ctt gga gta gta tac aga ttc aag	1776
Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu Gly Val Val Tyr Arg Phe Lys	

580	585	590	
aaa cta aag gag atg aag cct gag gag agg aag aaa aca gtt cct cgt			1824
Lys Leu Lys Glu Met Lys Pro Glu Glu Arg Lys Lys Thr Val Pro Arg			
595	600	605	
act gtc atg att ggg ggt aaa gca ttt gcc acc tat aca aat gca aaa			1872
Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys			
610	615	620	
cgg ata gtg aag ctg gtg aat gat gtt ggt gat gtt gtt aac agc gat			1920
Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val Gly Asp Val Val Asn Ser Asp			
625	630	635	640
cca gag gtc aac gaa tac cta aag gtg gta ttt gtt cca aac tac aat			1968
Pro Glu Val Asn Glu Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn			
645	650	655	
gtc act gta gcg gag atg cta ata ccc gga agt gag cta tct caa cac			2016
Val Thr Val Ala Glu Met Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His			
660	665	670	
atc agc aca gca ggc atg gag gca agt ggt acc agc aat atg aaa ttc			2064
Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe			
675	680	685	
gct ctc aac ggt tgt ctt att ata gga acc ctt gat ggg gct aat gtt			2112
Ala Leu Asn Gly Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val			
690	695	700	

gag ata aga gag gag gtt ggc gaa gaa aat ttc ttt ctt ttt ggt gca 2160
 Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala
 705 710 715 720

acg gcc gat cag gtc cct cga ctg cgt aaa gaa cga gaa gac gga ctg 2208
 Thr Ala Asp Gln Val Pro Arg Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asp Gly Leu
 725 730 735

ttc aaa ccc gat cct cgg ttc gaa gag gca aag cag ttt gtc aaa agt 2256
 Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Val Lys Ser
 740 745 750

gga gtg ttt ggg agc tac gat tat ggt cca ctc ctt gat tct ctt gag 2304
 Gly Val Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Gly Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu
 755 760 765

ggt aac aca ggt ttt gga cgt ggt gat tac ttc ctg gtt ggg tat gac 2352
 Gly Asn Thr Gly Phe Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp
 770 775 780

ttc ccc agc tac atg gac gct cag gcc aaa gtt gac gaa gct tat aag 2400
 Phe Pro Ser Tyr Met Asp Ala Gln Ala Lys Val Asp Glu Ala Tyr Lys
 785 790 795 800

gac cgg aag ggg tgg ctg aaa atg tcg ata ttg agc aca gcc ggg tca 2448
 Asp Arg Lys Gly Trp Leu Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly Ser
 805 810 815

gga aag ttc agc agt gac cgt aca ata gct cag tat gcc aaa gag att 2496

Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile

820

825

830

tgg aac att gag gct tgt cct gtt ccc taa

2526

Trp Asn Ile Glu Ala Cys Pro Val Pro

835

840

<210> 28

<211> 841

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 28

Met Ala Asn Ala Asn Gly Lys Ala Ala Thr Ser Leu Pro Glu Lys Ile

1

5

10

15

Ser Ala Lys Ala Asn Pro Glu Ala Asp Asp Ala Thr Glu Ile Ala Gly

20

25

30

Asn Ile Val Tyr His Ala Lys Tyr Ser Pro His Phe Ser Pro Leu Lys

35

40

45

Phe Gly Pro Glu Gln Ala Leu Tyr Ala Thr Ala Glu Ser Leu Arg Asp

50

55

60

Arg Leu Ile Gln Leu Trp Asn Glu Thr Tyr Val His Phe Asn Lys Val
65 70 75 80

Asp Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg
85 90 95

Ala Leu Thr Asn Ala Ile Gly Asn Leu Asn Leu Gln Gly Pro Tyr Ala
100 105 110

Asp Ala Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Glu Leu Glu Glu Ile Ala Glu Gln
115 120 125

Glu Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser
130 135 140

Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr
145 150 155 160

Gly Leu Arg Tyr Arg His Gly Leu Phe Lys Gln Ile Ile Thr Lys Lys
165 170 175

Gly Gln Glu Glu Ile Pro Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp
 180 185 190

Glu Ile Val Arg His Asp Val Val Phe Pro Val Arg Phe Phe Gly Lys
 195 200 205

Val Gln Val Asn Pro Asp Gly Ser Arg Lys Trp Val Asp Gly Asp Val
 210 215 220

Val Gln Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Gly Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala Lys Ala Arg Ala Glu Asp
 245 250 255

Leu Asp Leu Phe Gln Phe Asn Glu Gly Glu Tyr Glu Leu Ala Ala Gln
 260 265 270

Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Thr Val Leu Tyr Pro Gly Asp
 275 280 285

Ala Thr Glu Asn Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Phe Phe Leu
290 295 300

Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe His Glu Arg Ser
305 310 315 320

Thr Thr Glu Gly Ser Arg Lys Trp Ser Glu Phe Pro Ser Lys Val Ala
325 330 335

Val Gln Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Ala Ile Pro Glu Leu Met
340 345 350

Arg Leu Leu Met Asp Asp Asn Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ala Trp Asp
355 360 365

Val Thr Ser Lys Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu
370 375 380

Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ser Leu Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg
385 390 395 400

His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Val Gln Thr Ile
 . 405 410 415

Arg Asp Thr Arg Val Asp Leu Glu Asp Lys Ile Ser Ser Leu Ser Ile
 420 425 430

Leu Asp Asn Asn Pro Gln Lys Pro Val Val Arg Met Ala Asn Leu Cys
 435 440 445

Val Val Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp
 450 455 460

Ile Leu Lys Ala Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Ile Trp Pro Asn
 465 470 475 480

Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Leu Arg
 485 490 495

Phe Cys Ser Pro Glu Leu Ser Asp Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr
 500 505 510

Asp Lys Trp Ile Thr Asp Leu Asp Leu Leu Thr Gly Leu Arg Gln Phe

515

520

525

Ala Asp Asn Glu Glu Leu Gln Ser Glu Trp Ala Ser Ala Lys Thr Ala
530 535 540

Asn Lys Lys Arg Leu Ala Gln Tyr Ile Glu Arg Val Thr Gly Val Ser
545 550 555 560

Ile Asp Pro Thr Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu
565 570 575

Tyr Lys Arg Gln Leu Met Asn Ile Leu Gly Val Val Tyr Arg Phe Lys
580 585 590

Lys Leu Lys Glu Met Lys Pro Glu Glu Arg Lys Lys Thr Val Pro Arg
595 600 605

Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys
610 615 620

Arg Ile Val Lys Leu Val Asn Asp Val Gly Asp Val Val Asn Ser Asp
625 630 635 640

Pro Glu Val Asn Glu Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn
645 650 655

Val Thr Val Ala Glu Met Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His
660 665 670

Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe
675 680 685

Ala Leu Asn Gly Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val
690 695 700

Glu Ile Arg Glu Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala
705 710 715 720

Thr Ala Asp Gln Val Pro Arg Leu Arg Lys Glu Arg Glu Asp Gly Leu
725 730 735

Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Val Lys Ser
740 745 750

Gly Val Phe Gly Ser Tyr Asp Tyr Gly Pro Leu Leu Asp Ser Leu Glu
755 760 765

Gly Asn Thr Gly Phe Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly Tyr Asp
770 775 780

Phe Pro Ser Tyr Met Asp Ala Gln Ala Lys Val Asp Glu Ala Tyr Lys
785 790 795 800

Asp Arg Lys Gly Trp Leu Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ala Gly Ser
805 810 815

Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ala Gln Tyr Ala Lys Glu Ile
820 825 830

Trp Asn Ile Glu Ala Cys Pro Val Pro
835 840

<210> 29

<211> 2655

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<220>

<221> CDS

<222> (12)..(2528)

<400> 29

gtttatatttc c atg gaa ggt ggt gca aaa tcg aat gat gta tca gca gca 50
 Met Glu Gly Gly Ala Lys Ser Asn Asp Val Ser Ala Ala
 1 5 10

cct att gct caa cca ctt tct gaa gac cct act gac att gca tct aat 98
 Pro Ile Ala Gln Pro Leu Ser Glu Asp Pro Thr Asp Ile Ala Ser Asn
 15 20 25

atc aag tat cat gct caa tat act cct cat ttt tct cct ttc aag ttt 146
 Ile Lys Tyr His Ala Gln Tyr Thr Pro His Phe Ser Pro Phe Lys Phe
 30 35 40 45

gag cca cta caa gca tac tat gct gct act gct gac agt gtt cgt gat 194
 Glu Pro Leu Gln Ala Tyr Tyr Ala Ala Thr Ala Asp Ser Val Arg Asp
 50 55 60

cgc ttg atc aaa caa tgg aat gac acc tat ctt cat tat gac aaa gtt 242
 Arg Leu Ile Lys Gln Trp Asn Asp Thr Tyr Leu His Tyr Asp Lys Val
 65 70 75

aat cca aag caa aca tac tac tta tca atg gag tat ctc cag ggg cga 290
 Asn Pro Lys Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg

80	85	90	
gct ttg aca aat gca gtt gga aac tta gac atc cac aat gca tat gct			338
Ala Leu Thr Asn Ala Val Gly Asn Leu Asp Ile His Asn Ala Tyr Ala			
95	100	105	
gat gct tta aac aaa ctg ggt cag cag ctt gag gag gtc gtt gag cag			386
Asp Ala Leu Asn Lys Leu Gly Gln Gln Leu Glu Glu Val Val Glu Gln			
110	115	120	125
gaa aaa gat gca gca tta gga aat ggt ggt tta gga agg ctc gct tca			434
Glu Lys Asp Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser			
130	135	140	
tgc ttt ctt gat tcc atg gcc aca ttg aac ctt cca gca tgg ggt tat			482
Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr			
145	150	155	
ggc ttg agg tac aga tat gga ctt ttt aag cag ctt atc aca aag gct			530
Gly Leu Arg Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Leu Ile Thr Lys Ala			
160	165	170	
ggg caa gaa gaa gtt cct gaa gat tgg ttg gag aaa ttt agt ccc tgg			578
Gly Gln Glu Glu Val Pro Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp			
175	180	185	
gaa att gta agg cat gat gtt gtc ttt cct atc agg ttt ttt ggt cat			626
Glu Ile Val Arg His Asp Val Val Phe Pro Ile Arg Phe Phe Gly His			
190	195	200	205

gtt gaa gtc ctc cct tct ggc tcg cga aaa tgg gtt ggt gga gag gtc 674
 Val Glu Val Leu Pro Ser Gly Ser Arg Lys Trp Val Gly Gly Glu Val
 210 215 220

cta cag gct ctt gca tat gat gtg cca att cca gga tac aga act aaa 722
 Leu Gln Ala Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Arg Thr Lys
 225 230 235

aac act aat agt ctt cgt ctc tgg gaa gcc aaa gca agc tct gag gat 770
 Asn Thr Asn Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala Lys Ala Ser Ser Glu Asp
 240 245 250

ttc aac ttg ttt ctg ttt aat gat gga cag tat gat gct gct gca cag 818
 Phe Asn Leu Phe Leu Phe Asn Asp Gly Gln Tyr Asp Ala Ala Ala Gln
 255 260 265

ctt cat tct agg gct cag cag att tgt gct gtt ctc tac cct ggg gat 866
 Leu His Ser Arg Ala Gln Gln Ile Cys Ala Val Leu Tyr Pro Gly Asp
 270 275 280 285

gct aca gag aat gga aaa ctc tta cgg cta aag caa caa ttt ttt ctg 914
 Ala Thr Glu Asn Gly Lys Leu Leu Arg Leu Lys Gln Gln Phe Phe Leu
 290 295 300

tgc agt gca tcg ctt cag gat att att gcc aga ttc aaa gag aga gaa 962
 Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ala Arg Phe Lys Glu Arg Glu
 305 310 315

gat gga aag ggt tct cac cag tgg tct gaa ttc ccc aag aag gtt gcg 1010
 Asp Gly Lys Gly Ser His Gln Trp Ser Glu Phe Pro Lys Lys Val Ala
 320 325 330

ata caa cta aat gac aca cat cca act ctt acg att cca gag ctg atg 1058
 Ile Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Thr Ile Pro Glu Leu Met
 335 340 345

cgg ttg cta atg gat gat gaa gga ctt ggg tgg gat gaa tct tgg aat 1106
 Arg Leu Leu Met Asp Asp Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ser Trp Asn
 350 355 360 365

atc act act agg aca att gcc tat acg aat cat aca gtc cta cct gaa 1154
 Ile Thr Thr Arg Thr Ile Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu
 370 375 380

gca ctt gaa aaa tgg tct cag gca gtc atg tgg aag ctc ctt cct aga 1202
 Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg
 385 390 395

cat atg gaa atc att gaa gaa att gac aaa cgg ttt gtt gct aca ata 1250
 His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Val Ala Thr Ile
 400 405 410

atg tca gaa aga cct gat ctt gag aat aag atg cct agc atg cgc att 1298
 Met Ser Glu Arg Pro Asp Leu Glu Asn Lys Met Pro Ser Met Arg Ile
 415 420 425

ttg gat cac aac gcc aca aaa cct gtt gtg cat atg gct aac ttg tgt 1346

Leu Asp His Asn Ala Thr Lys Pro Val Val His Met Ala Asn Leu Cys
 430 435 440 445

gtt gtc tct tca cat acg gta aat ggt gtt gcc cag ctg cat agt gac 1394
 Val Val Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp
 450 455 460

atc ctg aag gct gag tta ttt gct gat tat gtc tct gta tgg ccc acc 1442
 Ile Leu Lys Ala Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Val Trp Pro Thr
 465 470 475

aag ttc cag aat aag acc aat ggt ata act cct cgt agg tgg atc cga 1490
 Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg
 480 485 490

ttt tgt agt cct gag ctg agt cat ata att acc aag tgg tta aaa aca 1538
 Phe Cys Ser Pro Glu Leu Ser His Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr
 495 500 505

gat caa tgg gtg acg aac ctc gaa ctg ctt gct aat ctt cgg gag ttt 1586
 Asp Gln Trp Val Thr Asn Leu Glu Leu Leu Ala Asn Leu Arg Glu Phe
 510 515 520 525

gct gat aat tcg gag ctc cat gct gaa tgg gaa tca gcc aag atg gcc 1634
 Ala Asp Asn Ser Glu Leu His Ala Glu Trp Glu Ser Ala Lys Met Ala
 530 535 540

aac aag cag cgt ttg gca cag tat ata ctg cat gtg aca ggt gtg agc 1682
 Asn Lys Gln Arg Leu Ala Gln Tyr Ile Leu His Val Thr Gly Val Ser

545	550	555	
atc gat cca aat tcc ctt ttt gac ata caa gtc aaa cgt atc cat gaa			1730
Ile Asp Pro Asn Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu			
560	565	570	
tac aaa agg cag ctt cta aat att ctg ggc gtc atc tat aga tac aag			1778
Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Val Ile Tyr Arg Tyr Lys			
575	580	585	
aag ctt aag gga atg agc cct gaa gaa agg aaa aat aca act cct cgc			1826
Lys Leu Lys Gly Met Ser Pro Glu Glu Arg Lys Asn Thr Thr Pro Arg			
590	595	600	605
aca gtc atg att gga gga aaa gca ttt gca aca tac aca aat gca aaa			1874
Thr Val Met Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys			
610	615	620	
cga att gtc aag ctc gtg act gat gtt ggc gac gtt gtc aat agt gac			1922
Arg Ile Val Lys Leu Val Thr Asp Val Gly Asp Val Val Asn Ser Asp			
625	630	635	
cct gac gtc aat gac tat ttg aag gtg gtt ttt gtt ccc aac tac aat			1970
Pro Asp Val Asn Asp Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn			
640	645	650	
gta tct gtg gca gag atg ctt att ccg gga agt gag cta tca caa cac			2018
Val Ser Val Ala Glu Met Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His			
655	660	665	

atc agt act gca ggc atg gaa gca agt gga aca agc aac atg aaa ttt 2066
 Ile Ser Thr Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe
 670 675 680 685

gcc ctt aat gga tgc ctt atc att ggg aca cta gat ggg gcc aat gtg 2114
 Ala Leu Asn Gly Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val
 690 695 700

gaa att agg gag gaa att gga gaa gat aac ttc ttt ctt ttt ggt gca 2162
 Glu Ile Arg Glu Glu Ile Gly Glu Asp Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala
 705 710 715

aca gct gat gaa gtt cct caa ctg cgc aaa gat cga gag aat gga ctg 2210
 Thr Ala Asp Glu Val Pro Gln Leu Arg Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu
 720 725 730

ttc aaa cct gat cct cgg ttt gaa gag gca aaa caa ttt att agg tct 2258
 Phe Lys Pro Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser
 735 740 745

gga gca ttt ggg acg tat gat tat aat ccc ctc ctt gaa tca ctg gaa 2306
 Gly Ala Phe Gly Thr Tyr Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Glu Ser Leu Glu
 750 755 760 765

ggg aac tcg gga tat ggt cgt gga gac tat ttt ctt gtt ggt cat gat 2354
 Gly Asn Ser Gly Tyr Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly His Asp
 770 775 780

ttt ccg agc tac atg gat gct cag gca agg gtt gat gaa gct tac aag 2402
Phe Pro Ser Tyr Met Asp Ala Gln Ala Arg Val Asp Glu Ala Tyr Lys
785 790 795

gac agg aaa aga tgg ata aag atg tct ata ctg agc act agt ggg agt 2450
Asp Arg Lys Arg Trp Ile Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ser Gly Ser
800 805 810

ggc aaa ttt agt agt gac cgt aca att tct caa tat gca aaa gag atc 2498
Gly Lys Phe Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ser Gln Tyr Ala Lys Glu Ile
815 820 825

tgg aac att gcc gag tgt cgc gtg cct tga gcacacttct gaacctggta 2548
Trp Asn Ile Ala Glu Cys Arg Val Pro
830 835

tctaataagg atctaattgtt cattgtttac tagcatatga ataattgtaag ttcaagcaca 2608

acatgctttc ttatttccta ctgctctcaa gaagcagtta tttgttg 2655

<210> 30

<211> 838

<212> PRT

<213> Solanum tuberosum

<400> 30

Met Glu Gly Gly Ala Lys Ser Asn Asp Val Ser Ala Ala Pro Ile Ala
1 5 10 15

Gln Pro Leu Ser Glu Asp Pro Thr Asp Ile Ala Ser Asn Ile Lys Tyr
20 25 30

His Ala Gln Tyr Thr Pro His Phe Ser Pro Phe Lys Phe Glu Pro Leu
35 40 45

Gln Ala Tyr Tyr Ala Ala Thr Ala Asp Ser Val Arg Asp Arg Leu Ile
50 55 60

Lys Gln Trp Asn Asp Thr Tyr Leu His Tyr Asp Lys Val Asn Pro Lys
65 70 75 80

Gln Thr Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Tyr Leu Gln Gly Arg Ala Leu Thr
85 90 95

Asn Ala Val Gly Asn Leu Asp Ile His Asn Ala Tyr Ala Asp Ala Leu
100 105 110

Asn Lys Leu Gly Gln Gln Leu Glu Glu Val Val Glu Gln Glu Lys Asp
115 120 125

Ala Ala Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu
130 135 140

Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg
145 150 155 160

Tyr Arg Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Leu Ile Thr Lys Ala Gly Gln Glu
165 170 175

Glu Val Pro Glu Asp Trp Leu Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu Ile Val
180 185 190

Arg His Asp Val Val Phe Pro Ile Arg Phe Phe Gly His Val Glu Val
195 200 205

Leu Pro Ser Gly Ser Arg Lys Trp Val Gly Gly Glu Val Leu Gln Ala
210 215 220

Leu Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Arg Thr Lys Asn Thr Asn

Met Asp Asp Glu Gly Leu Gly Trp Asp Glu Ser Trp Asn Ile Thr Thr
355 360 365

Arg Thr Ile Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu
370 375 380

Lys Trp Ser Gln Ala Val Met Trp Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu
385 390 395 400

Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys Arg Phe Val Ala Thr Ile Met Ser Glu
405 410 415

Arg Pro Asp Leu Glu Asn Lys Met Pro Ser Met Arg Ile Leu Asp His
420 425 430

Asn Ala Thr Lys Pro Val Val His Met Ala Asn Leu Cys Val Val Ser
435 440 445

Ser His Thr Val Asn Gly Val Ala Gln Leu His Ser Asp Ile Leu Lys
450 455 460

Ala Glu Leu Phe Ala Asp Tyr Val Ser Val Trp Pro Thr Lys Phe Gln
465 470 475 480

Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Ser
485 490 495

Pro Glu Leu Ser His Ile Ile Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Gln Trp
500 505 510

Val Thr Asn Leu Glu Leu Leu Ala Asn Leu Arg Glu Phe Ala Asp Asn
515 520 525

Ser Glu Leu His Ala Glu Trp Glu Ser Ala Lys Met Ala Asn Lys Gln
530 535 540

Arg Leu Ala Gln Tyr Ile Leu His Val Thr Gly Val Ser Ile Asp Pro
545 550 555 560

Asn Ser Leu Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg
565 570 575

Gln Leu Leu Asn Ile Leu Gly Val Ile Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys
580 585 590

Gly Met Ser Pro Glu Glu Arg Lys Asn Thr Thr Pro Arg Thr Val Met
595 600 605

Ile Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Val
610 615 620

Lys Leu Val Thr Asp Val Gly Asp Val Val Asn Ser Asp Pro Asp Val
625 630 635 640

Asn Asp Tyr Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val
645 650 655

Ala Glu Met Leu Ile Pro Gly Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr
660 665 670

Ala Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Leu Asn
675 680 685

Gly Cys Leu Ile Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg

690

695

700

Glu Glu Ile Gly Glu Asp Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Thr Ala Asp
705 710 715 720

Glu Val Pro Gln Leu Arg Lys Asp Arg Glu Asn Gly Leu Phe Lys Pro
725 730 735

Asp Pro Arg Phe Glu Glu Ala Lys Gln Phe Ile Arg Ser Gly Ala Phe
740 745 750

Gly Thr Tyr Asp Tyr Asn Pro Leu Leu Glu Ser Leu Glu Gly Asn Ser
755 760 765

Gly Tyr Gly Arg Gly Asp Tyr Phe Leu Val Gly His Asp Phe Pro Ser
770 775 780

Tyr Met Asp Ala Gln Ala Arg Val Asp Glu Ala Tyr Lys Asp Arg Lys
785 790 795 800

Arg Trp Ile Lys Met Ser Ile Leu Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Phe
805 810 815

Ser Ser Asp Arg Thr Ile Ser Gln Tyr Ala Lys Glu Ile Trp Asn Ile
 820 825 830

Ala Glu Cys Arg Val Pro
 835

<210> 31
 <211> 1618
 <212> DNA
 <213> Ipomoea batatas

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(1618)

<400> 31
 c ttg gga agg ctt gct tct tgc ttt ctt gat tcc atg gca aca tta aac 49
 Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn
 1 5 10 15

ttg cca gcc tgg ggt tat gga ttg agg tac aaa cat gga ctg ttc aag 97
 Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys
 20 25 30

caa cgt atc acc aaa gca gga caa gag gag att gct gaa gat tgg ctg 145
 Gln Arg Ile Thr Lys Ala Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp Leu
 35 40 45

gag aaa ttc agt ccc tgg gaa gtt gca agg cat gac att gtc ttc ccc 193
 Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu Val Ala Arg His Asp Ile Val Phe Pro
 50 55 60

atc aga ttt ttt ggt cac gtt gag gtt gat cct agt ggc tcc cgg aaa 241
 Ile Arg Phe Phe Gly His Val Glu Val Asp Pro Ser Gly Ser Arg Lys
 65 70 75 80

tgg gtt ggt ggt gag gtc ata cag gct gtt gca tat gat gtt cct att 289
 Trp Val Gly Gly Glu Val Ile Gln Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile
 85 90 95

cct ggg tat aaa aca aag aat act att agt ctt cga cta tgg gaa gcc 337
 Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala
 100 105 110

aaa gcc agt gca gag gac tta aac tta tct caa ttt aat gat ggg caa 385
 Lys Ala Ser Ala Glu Asp Leu Asn Leu Ser Gln Phe Asn Asp Gly Gln
 115 120 125

tat gaa tct gct aca ctg ctt cat tct cgg gct cat cag att tgt gct 433
 Tyr Glu Ser Ala Thr Leu Leu His Ser Arg Ala His Gln Ile Cys Ala
 130 135 140

gtc ctt tac cct ggg gat gca acg gaa agt gga aaa ctt tta cga ctt 481

Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala Thr Glu Ser Gly Lys Leu Leu Arg Leu	
145 150 155 160	
.	
aaa caa caa ttt ttg ctg tgt agt gca tct ctt cag gac atc ata ttc	529
Lys Gln Gln Phe Leu Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Phe	
165 170 175	
aga ttt aag gag agg aat gat ggg aag ggc act ctt gat tgg tcc aca	577
Arg Phe Lys Glu Arg Asn Asp Gly Lys Gly Thr Leu Asp Trp Ser Thr	
180 185 190	
ttc ccc aca aaa gtt gca gta caa ctg aat gac aca cat cct acg ctc	625
Phe Pro Thr Lys Val Ala Val Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu	
195 200 205	
tcg att ccg gag ctg atg cgg tta ttg atg gat gat gaa gga ctt gga	673
Ser Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met Asp Asp Glu Gly Leu Gly	
210 215 220	
tgg gat gaa gca tgg gat ata acc act agg aca atc gct tat aca aat	721
Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile Thr Thr Arg Thr Ile Ala Tyr Thr Asn	
225 230 235 240	
cat acc gtc cta cct gaa gca cta gaa aaa tgg tca caa gca gtc atg	769
His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val Met	
245 250 255	
tgg aaa ctt ctt cca cgg cat atg gaa atc att gag gaa atc gac aag	817
Trp Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys	

260	265	270	
cgg ttt att gca atg ata caa tca aag ata cct aat ctt gag agt aag			865
Arg Phe Ile Ala Met Ile Gln Ser Lys Ile Pro Asn Leu Glu Ser Lys			
275	280	285	
atc tct gcc ata tgc att ttg gat cac aat ccc cag aag cct gtt gtg			913
Ile Ser Ala Ile Cys Ile Leu Asp His Asn Pro Gln Lys Pro Val Val			
290	295	300	
cgt atg gct aat ttg tgt gtc atc tct tcg cat acg gtg aat ggt gtt			961
Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Ile Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val			
305	310	315	320
gcc cag cta cac agt gat atc ttg aag gat gaa tta ttc atc gac tat			1009
Ala Gln Leu His Ser Asp Ile Leu Lys Asp Glu Leu Phe Ile Asp Tyr			
325	330	335	
gtc tct atc tgg ccc acc aaa ttc cag aac aaa acc aac ggc ata aca			1057
Val Ser Ile Trp Pro Thr Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr			
340	345	350	
cca cgg cgg tgg ctt agg ttt tgc aat ccc gag ctg agt gat ata atc			1105
Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Asp Ile Ile			
355	360	365	
acc aag tgg tta aaa act gat gaa tgg gtg act aat ctt gat ttg ctt			1153
Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Glu Trp Val Thr Asn Leu Asp Leu Leu			
370	375	380	

gat gtt gtc aat agt gat cct gag gtc aat agc tat ttg aag gta gtc 1537
 Asp Val Val Asn Ser Asp Pro Glu Val Asn Ser Tyr Leu Lys Val Val
 500 505 510

ttt gta ccc aat tac aac gta tct gtg gca gaa gtg ctt att ccg gga 1585
 Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly
 515 520 525

agt gag ctt tca cag cac atc agc aca gct ggc 1618
 Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly
 530 535

<210> 32

<211> 539

<212> PRT

<213> Ipomoea batatas

<400> 32

Leu Gly Arg Leu Ala Ser Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala Thr Leu Asn
 1 5 10 15

Leu Pro Ala Trp Gly Tyr Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly Leu Phe Lys
 20 25 30

Gln Arg Ile Thr Lys Ala Gly Gln Glu Glu Ile Ala Glu Asp Trp Leu

35

40

45

Glu Lys Phe Ser Pro Trp Glu Val Ala Arg His Asp Ile Val Phe Pro
50 55 60

Ile Arg Phe Phe Gly His Val Glu Val Asp Pro Ser Gly Ser Arg Lys
65 70 75 80

Trp Val Gly Gly Glu Val Ile Gln Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile
85 90 95

Pro Gly Tyr Lys Thr Lys Asn Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Glu Ala
100 105 110

Lys Ala Ser Ala Glu Asp Leu Asn Leu Ser Gln Phe Asn Asp Gly Gln
115 120 125

Tyr Glu Ser Ala Thr Leu Leu His Ser Arg Ala His Gln Ile Cys Ala
130 135 140

Val Leu Tyr Pro Gly Asp Ala Thr Glu Ser Gly Lys Leu Leu Arg Leu
145 150 155 160

Lys Gln Gln Phe Leu Leu Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Phe
 165 170 175

Arg Phe Lys Glu Arg Asn Asp Gly Lys Gly Thr Leu Asp Trp Ser Thr
 180 185 190

Phe Pro Thr Lys Val Ala Val Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Leu
 195 200 205

Ser Ile Pro Glu Leu Met Arg Leu Leu Met Asp Asp Glu Gly Leu Gly
 210 215 220

Trp Asp Glu Ala Trp Asp Ile Thr Thr Arg Thr Ile Ala Tyr Thr Asn
 225 230 235 240

His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu Glu Lys Trp Ser Gln Ala Val Met
 245 250 255

Trp Lys Leu Leu Pro Arg His Met Glu Ile Ile Glu Glu Ile Asp Lys
 260 265 270

Arg Phe Ile Ala Met Ile Gln Ser Lys Ile Pro Asn Leu Glu Ser Lys
275 280 285

Ile Ser Ala Ile Cys Ile Leu Asp His Asn Pro Gln Lys Pro Val Val
290 295 300

Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Ile Ser Ser His Thr Val Asn Gly Val
305 310 315 320

Ala Gln Leu His Ser Asp Ile Leu Lys Asp Glu Leu Phe Ile Asp Tyr
325 330 335

Val Ser Ile Trp Pro Thr Lys Phe Gln Asn Lys Thr Asn Gly Ile Thr
340 345 350

Pro Arg Arg Trp Leu Arg Phe Cys Asn Pro Glu Leu Ser Asp Ile Ile
355 360 365

Thr Lys Trp Leu Lys Thr Asp Glu Trp Val Thr Asn Leu Asp Leu Leu
370 375 380

Thr Asn Leu Arg Lys Phe Ala Asp Asp Glu Gln Leu His Ala Gln Trp
385 390 395 400

Glu Ser Ala Lys Met Ala Ser Lys Gln Arg Leu Ala Gln Tyr Ile Leu
405 410 415

Arg Val Thr Gly Val Arg Val Asp Pro Asn Thr Leu Phe Asp Ile Gln
420 425 430

Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu Leu Asn Val Leu Gly
435 440 445

Val Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Leu Lys Glu Met Lys Pro Glu Glu Arg
450 455 460

Lys Asn Thr Thr Ala Arg Thr Val Met Leu Gly Gly Lys Ala Phe Ala
465 470 475 480

Thr Tyr Thr Asn Ala Lys Arg Ile Ile Lys Leu Val Thr Asp Val Gly
485 490 495

Asp Val Val Asn Ser Asp Pro Glu Val Asn Ser Tyr Leu Lys Val Val

500

505

510

Phe Val Pro Asn Tyr Asn Val Ser Val Ala Glu Val Leu Ile Pro Gly

515

520

525

Ser Glu Leu Ser Gln His Ile Ser Thr Ala Gly

530

535

<210> 33

<211> 2754

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> a mutant of a potato type L alpha-glucan phosphorylase

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2751)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (4)..(2751)

<400> 33

atg acc ttg agt gag aaa att cac cat ccc att act gaa caa ggt ggt	48
Met Thr Leu Ser Glu Lys Ile His His Pro Ile Thr Glu Gln Gly Gly	
-1 1 5 10 15	
gag agc gac ctg agt tct ttt gct cct gat gcc gca tct att acc tca	96
Glu Ser Asp Leu Ser Ser Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Ile Thr Ser	
20 25 30	
agt atc aaa tac cat gca gaa ctc aca cct gta ttc tct cct gaa agg	144
Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Leu Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu Arg	
35 40 45	
ttt gag ctc cct aag gca ttc ttt gca aca gct caa agt gtt cgt gat	192
Phe Glu Leu Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val Arg Asp	
50 55 60	
tcg ctc ctt att aat tgg aat gct acg tat gat att tat gaa aag ctg	240
Ser Leu Leu Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Ile Tyr Glu Lys Leu	
65 70 75	
aac atg aag caa gcg tac tat cta tcc atg gaa ttt ctg cag ggt aga	288
Asn Met Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg	
80 85 90 95	
gca ttg tta aat gca att ggt aat ctg gag ctt act ggt gca ttt gcg	336
Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Ala Phe Ala	
100 105 110	
gaa gct ttg aaa aac ctt ggt cac aat cta gaa aat gtg gct tct cag	384

Glu Ala Leu Lys Asn Leu Gly His Asn Leu Glu Asn Val Ala Ser Gln	
115	120
	125
gaa cca gat gct gct ctt gga agt ggg ggt ttg gga cgg ctt gct tcc	432
Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Ser Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser	
130	135
	140
tgt ttt ctg gac tct ttg gca aca cta aac tac cca gca tgg ggc tat	480
Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr	
145	150
	155
gga ctt agg tac aag tat ggt tta ttt aag caa cgg att aca aaa gat	528
Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr Lys Asp	
160	165
	170
	175
ggt cag gag gag gtg gct gaa gat tgg ctt gaa att ggc agt cca tgg	576
Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Ile Gly Ser Pro Trp	
180	185
	190
gaa gtt gtg agg aat gat gtt tca tat cct atc aaa ttc tat gga aaa	624
Glu Val Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Ile Lys Phe Tyr Gly Lys	
195	200
	205
gtc tct aca gga tca gat gga aag agg tat tgg att ggt gga gag gat	672
Val Ser Thr Gly Ser Asp Gly Lys Arg Tyr Trp Ile Gly Gly Glu Asp	
210	215
	220
ata aag gca gtt gcg tat gat gtt ccc ata cca ggg tat aag acc aga	720
Ile Lys Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Arg	

225

230

235

acc aca atc agc ctt cga ctg tgg tct aca cag gtt cca tca gcg gat 768
 Thr Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Ser Thr Gln Val Pro Ser Ala Asp
 240 245 250 255

ttt gat tta tct gct ttc aat gct gga gag cac acc aaa gca tgt gaa 816
 Phe Asp Leu Ser Ala Phe Asn Ala Gly Glu His Thr Lys Ala Cys Glu
 260 265 270

gcc caa gca aac gct gag aag ata tgt tac ata ctc tac cct ggg gat 864
 Ala Gln Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr Pro Gly Asp
 275 280 285

gaa tca gag gag gga aag atc ctt cgg ttg aag caa caa tat acc tta 912
 Glu Ser Glu Glu Gly Lys Ile Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu
 290 295 300

tgc tcg gct tct ctc caa gat att att tct cga ttt gag agg aga tca 960
 Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe Glu Arg Arg Ser
 305 310 315

ggt gat cgt att aag tgg gaa gag ttt cct gaa aaa gtt gct gtg cag 1008
 Gly Asp Arg Ile Lys Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln
 320 325 330 335

atg aat gac act cac cct aca ctt tgt atc cct gag ctg atg aga ata 1056
 Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile
 340 345 350

ttg ata gat ctg aag ggc ttg aat tgg aat gaa gct tgg aat att act	1104
Leu Ile Asp Leu Lys Gly Leu Asn Trp Asn Glu Ala Trp Asn Ile Thr	
355 360 365	
caa aga act gtg gcc tac aca aac cat act gtt ttg cct gag gca ctg	1152
Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu	
370 375 380	
gag aaa tgg agt tat gaa ttg atg cag aaa ctg ctt ccc aga cat gtc	1200
Glu Lys Trp Ser Tyr Glu Leu Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His Val	
385 390 395	
gaa atc att gag gcg att gac gag gag ctg gta cat gaa att gta tta	1248
Glu Ile Ile Glu Ala Ile Asp Glu Glu Leu Val His Glu Ile Val Leu	
400 405 410 415	
aaa tat ggt tca atg gat ctg aac aaa ttg gag gaa aag ttg act aca	1296
Lys Tyr Gly Ser Met Asp Leu Asn Lys Leu Glu Glu Lys Leu Thr Thr	
420 425 430	
atg aga atc tta gaa aat ttt gat ctt ccc agt cct gtt gct gaa tta	1344
Met Arg Ile Leu Glu Asn Phe Asp Leu Pro Ser Pro Val Ala Glu Leu	
435 440 445	
ttt att aag cct gaa atc tca gtt gat gat gat act gaa aca gta gaa	1392
Phe Ile Lys Pro Glu Ile Ser Val Asp Asp Asp Thr Glu Thr Val Glu	
450 455 460	

gtc cat gac aaa gtt gaa gct tcc gat aaa gtt gtg act aat gat gaa 1440
 Val His Asp Lys Val Glu Ala Ser Asp Lys Val Val Thr Asn Asp Glu
 465 470 475

gat gac act ggt aag aaa act agt gtg aag ata gaa gca gct gca gaa 1488
 Asp Asp Thr Gly Lys Lys Thr Ser Val Lys Ile Glu Ala Ala Ala Glu
 480 485 490 495

aaa gac att gac aag aaa act ccc gtg agt ccg gaa cca gct gtt ata 1536
 Lys Asp Ile Asp Lys Lys Thr Pro Val Ser Pro Glu Pro Ala Val Ile
 500 505 510

cca cct aag aag gta cgc atg gcc aac ttg tgt gtt gtg ggc ggc cat 1584
 Pro Pro Lys Lys Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His
 515 520 525

gct gtt aat gga gtt gct gag atc cat agt gaa att gtg aag gag gag 1632
 Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu Glu
 530 535 540

gtt ttc aat gac ttc tat gag ctc tgg ccg gaa aag ttc caa aac aaa 1680
 Val Phe Asn Asp Phe Tyr Glu Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys
 545 550 555

aca aat gga gtg act cca aga aga tgg att cgt ttc tgc aat cct cct 1728
 Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Pro
 560 565 570 575

ctt agt gcc atc ata act aag tgg act ggt aca gag gat tgg gtc ctg 1776

Leu Ser Ala Ile Ile Thr Lys Trp Thr Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu
 580 585 590

aaa act gaa aag ttg gca gaa ttg cag aag ttt gct gat aat gaa gat 1824
 Lys Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Gln Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp
 595 600 605

ctt caa aat gag tgg agg gaa gca aaa agg agc aac aag att aaa gtt 1872
 Leu Gln Asn Glu Trp Arg Glu Ala Lys Arg Ser Asn Lys Ile Lys Val
 610 615 620

gtc tcc ttt ctc aaa gaa aag aca ggg tat tct gtt gtc cca gat gca 1920
 Val Ser Phe Leu Lys Glu Lys Thr Gly Tyr Ser Val Val Pro Asp Ala
 625 630 635

atg ttt gat att cag gta aaa cgc att cat gag tac aag cga caa ctg 1968
 Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu
 640 645 650 655

tta aat atc ttc ggc atc gtt tat cgg tat aag aag atg aaa gaa atg 2016
 Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met
 660 665 670

aca gct gca gaa aga aag act aac ttc gtt cct cga gta tgc ata ttt 2064
 Thr Ala Ala Glu Arg Lys Thr Asn Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe
 675 680 685

ggg gga aaa gct ttt gcc aca tat gtg caa gcc aag agg att gta aaa 2112
 Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys

690	695	700	
ttt atc ata gat gtt ggt gct act ata aat cat gat cca gaa atc ggt			2160
Phe Ile Ile Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly			
705	710	715	
gat ctg ttg aag gta gtc ttt gtg cca gat tac aat gtc agt gtt gct			2208
Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala			
720	725	730	735
gaa ttg cta att cct gct agc gat cta tca gaa cat atc agt acg gct			2256
Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Asp Leu Ser Glu His Ile Ser Thr Ala			
740	745	750	
gga atg gag gcc agt gga acc agt aat atg aag ttt gca atg aat ggt			2304
Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly			
755	760	765	
tgt atc caa att ggt aca ttg gat ggc gct aat gtt gaa ata agg gaa			2352
Cys Ile Gln Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu			
770	775	780	
gag gtt gga gaa gaa aac ttc ttt ctc ttt ggt gct caa gct cat gaa			2400
Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His Glu			
785	790	795	
att gca ggg ctt aga aaa gaa aga gct gac gga aag ttt gta cct gat			2448
Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Asp Gly Lys Phe Val Pro Asp			
800	805	810	815

gaa cgt ttt gaa gag gtg aag gaa ttt gtt aga agc ggt gct ttt ggc	2496
Glu Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Ala Phe Gly	
820 825 830	
tct tat aac tat gat gac cta att gga tcg ttg gaa gga aat gaa ggt	2544
Ser Tyr Asn Tyr Asp Asp Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly	
835 840 845	
ttt ggc cgt gct gac tat ttc ctt gtg ggc aag gac ttc ccc agt tac	2592
Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr	
850 855 860	
ata gaa tgc caa gag aaa gtt gat gag gca tat cgc gac cag aaa agg	2640
Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Arg	
865 870 875	
tgg aca acg atg tca atc ttg aat aca gcg gga tcg tac aag ttc agc	2688
Trp Thr Thr Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Lys Phe Ser	
880 885 890 895	
agt gac aga aca atc cat gaa tat gcc aaa gac att tgg aac att gaa	2736
Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Glu	
900 905 910	
gct gtg gaa ata gca taa	2754
Ala Val Glu Ile Ala	
915	

<210> 34

<211> 917

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> a mutant of a potato type L alpha-glucan phosphorylase

<400> 34

Met Thr Leu Ser Glu Lys Ile His His Pro Ile Thr Glu Gln Gly Gly
-1 1 5 10 15

Glu Ser Asp Leu Ser Ser Phe Ala Pro Asp Ala Ala Ser Ile Thr Ser
20 25 30

Ser Ile Lys Tyr His Ala Glu Leu Thr Pro Val Phe Ser Pro Glu Arg
35 40 45

Phe Glu Leu Pro Lys Ala Phe Phe Ala Thr Ala Gln Ser Val Arg Asp
50 55 60

Ser Leu Leu Ile Asn Trp Asn Ala Thr Tyr Asp Ile Tyr Glu Lys Leu
65 70 75

Asn Met Lys Gln Ala Tyr Tyr Leu Ser Met Glu Phe Leu Gln Gly Arg
80 85 90 95

Ala Leu Leu Asn Ala Ile Gly Asn Leu Glu Leu Thr Gly Ala Phe Ala
100 105 110

Glu Ala Leu Lys Asn Leu Gly His Asn Leu Glu Asn Val Ala Ser Gln
115 120 125

Glu Pro Asp Ala Ala Leu Gly Ser Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ser
130 135 140

Cys Phe Leu Asp Ser Leu Ala Thr Leu Asn Tyr Pro Ala Trp Gly Tyr
145 150 155

Gly Leu Arg Tyr Lys Tyr Gly Leu Phe Lys Gln Arg Ile Thr Lys Asp
160 165 170 175

Gly Gln Glu Glu Val Ala Glu Asp Trp Leu Glu Ile Gly Ser Pro Trp
180 185 190

Glu Val Val Arg Asn Asp Val Ser Tyr Pro Ile Lys Phe Tyr Gly Lys
 195 200 205

Val Ser Thr Gly Ser Asp Gly Lys Arg Tyr Trp Ile Gly Gly Glu Asp
 210 215 220

Ile Lys Ala Val Ala Tyr Asp Val Pro Ile Pro Gly Tyr Lys Thr Arg
 225 230 235

Thr Thr Ile Ser Leu Arg Leu Trp Ser Thr Gln Val Pro Ser Ala Asp
 240 245 250 255

Phe Asp Leu Ser Ala Phe Asn Ala Gly Glu His Thr Lys Ala Cys Glu
 260 265 270

Ala Gln Ala Asn Ala Glu Lys Ile Cys Tyr Ile Leu Tyr Pro Gly Asp
 275 280 285

Glu Ser Glu Glu Gly Lys Ile Leu Arg Leu Lys Gln Gln Tyr Thr Leu
 290 295 300

Cys Ser Ala Ser Leu Gln Asp Ile Ile Ser Arg Phe Glu Arg Arg Ser
305 310 315

Gly Asp Arg Ile Lys Trp Glu Glu Phe Pro Glu Lys Val Ala Val Gln
320 325 330 335

Met Asn Asp Thr His Pro Thr Leu Cys Ile Pro Glu Leu Met Arg Ile
340 345 350

Leu Ile Asp Leu Lys Gly Leu Asn Trp Asn Glu Ala Trp Asn Ile Thr
355 360 365

Gln Arg Thr Val Ala Tyr Thr Asn His Thr Val Leu Pro Glu Ala Leu
370 375 380

Glu Lys Trp Ser Tyr Glu Leu Met Gln Lys Leu Leu Pro Arg His Val
385 390 395

Glu Ile Ile Glu Ala Ile Asp Glu Glu Leu Val His Glu Ile Val Leu
400 405 410 415

Lys Tyr Gly Ser Met Asp Leu Asn Lys Leu Glu Glu Lys Leu Thr Thr

420

425

430

Met Arg Ile Leu Glu Asn Phe Asp Leu Pro Ser Pro Val Ala Glu Leu
435 440 445

Phe Ile Lys Pro Glu Ile Ser Val Asp Asp Asp Thr Glu Thr Val Glu

450

455

460

Val His Asp Lys Val Glu Ala Ser Asp Lys Val Val Thr Asn Asp Glu
465 470 475

Asp Asp Thr Gly Lys Lys Thr Ser Val Lys Ile Glu Ala Ala Ala Glu
480 485 490 495

Lys Asp Ile Asp Lys Lys Thr Pro Val Ser Pro Glu Pro Ala Val Ile
500 505 510

Pro Pro Lys Lys Val Arg Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly His
515 520 525

Ala Val Asn Gly Val Ala Glu Ile His Ser Glu Ile Val Lys Glu Glu

530

535

540

Val Phe Asn Asp Phe Tyr Glu Leu Trp Pro Glu Lys Phe Gln Asn Lys
545 550 555

Thr Asn Gly Val Thr Pro Arg Arg Trp Ile Arg Phe Cys Asn Pro Pro
560 565 570 575

Leu Ser Ala Ile Ile Thr Lys Trp Thr Gly Thr Glu Asp Trp Val Leu
580 585 590

Lys Thr Glu Lys Leu Ala Glu Leu Gln Lys Phe Ala Asp Asn Glu Asp
595 600 605

Leu Gln Asn Glu Trp Arg Glu Ala Lys Arg Ser Asn Lys Ile Lys Val
610 615 620

Val Ser Phe Leu Lys Glu Lys Thr Gly Tyr Ser Val Val Pro Asp Ala
625 630 635

Met Phe Asp Ile Gln Val Lys Arg Ile His Glu Tyr Lys Arg Gln Leu
640 645 650 655

Leu Asn Ile Phe Gly Ile Val Tyr Arg Tyr Lys Lys Met Lys Glu Met
 660 665 670

Thr Ala Ala Glu Arg Lys Thr Asn Phe Val Pro Arg Val Cys Ile Phe
 675 680 685

Gly Gly Lys Ala Phe Ala Thr Tyr Val Gln Ala Lys Arg Ile Val Lys
 690 695 700

Phe Ile Ile Asp Val Gly Ala Thr Ile Asn His Asp Pro Glu Ile Gly
 705 710 715

Asp Leu Leu Lys Val Val Phe Val Pro Asp Tyr Asn Val Ser Val Ala
 720 725 730 735

Glu Leu Leu Ile Pro Ala Ser Asp Leu Ser Glu His Ile Ser Thr Ala
 740 745 750

Gly Met Glu Ala Ser Gly Thr Ser Asn Met Lys Phe Ala Met Asn Gly
 755 760 765

Cys Ile Gln Ile Gly Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Arg Glu
770 775 780

Glu Val Gly Glu Glu Asn Phe Phe Leu Phe Gly Ala Gln Ala His Glu
785 790 795

Ile Ala Gly Leu Arg Lys Glu Arg Ala Asp Gly Lys Phe Val Pro Asp
800 805 810 815

Glu Arg Phe Glu Glu Val Lys Glu Phe Val Arg Ser Gly Ala Phe Gly
820 825 830

Ser Tyr Asn Tyr Asp Asp Leu Ile Gly Ser Leu Glu Gly Asn Glu Gly
835 840 845

Phe Gly Arg Ala Asp Tyr Phe Leu Val Gly Lys Asp Phe Pro Ser Tyr
850 855 860

Ile Glu Cys Gln Glu Lys Val Asp Glu Ala Tyr Arg Asp Gln Lys Arg
865 870 875

Trp Thr Thr Met Ser Ile Leu Asn Thr Ala Gly Ser Tyr Lys Phe Ser
880 885 890 895

Ser Asp Arg Thr Ile His Glu Tyr Ala Lys Asp Ile Trp Asn Ile Glu
900 905 910

Ala Val Glu Ile Ala
915

<210> 35

<211> 797

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 35

Met Ser Gln Pro Ile Phe Asn Asp Lys Gln Phe Gln Glu Ala Leu Ser
1 5 10 15

Arg Gln Trp Gln Arg Tyr Gly Leu Asn Ser Ala Ala Glu Met Thr Pro
20 25 30

Arg Gln Trp Trp Leu Ala Val Ser Glu Ala Leu Ala Glu Met Leu Arg
35 40 45

Ala Gln Pro Phe Ala Lys Pro Val Ala Asn Gln Arg His Val Asn Tyr
50 55 60

Ile Ser Met Glu Phe Leu Ile Gly Arg Leu Thr Gly Asn Asn Leu Leu
65 70 75 80

Asn Leu Gly Trp Tyr Gln Asp Val Gln Asp Ser Leu Lys Ala Tyr Asp
85 90 95

Ile Asn Leu Thr Asp Leu Leu Glu Glu Glu Ile Asp Pro Ala Leu Gly
100 105 110

Asn Gly Gly Leu Gly Arg Leu Ala Ala Cys Phe Leu Asp Ser Met Ala
115 120 125

Thr Val Gly Gln Ser Ala Thr Gly Tyr Gly Leu Asn Tyr Gln Tyr Gly
130 135 140

Leu Phe Arg Gln Ser Phe Val Asp Gly Lys Gln Val Glu Ala Pro Asp
145 150 155 160

Asp Trp His Arg Ser Asn Tyr Pro Trp Phe Arg His Asn Glu Ala Leu
165 170 175

Asp Val Gln Val Gly Ile Gly Gly Lys Val Thr Lys Asp Gly Arg Trp
180 185 190

Glu Pro Glu Phe Thr Ile Thr Gly Gln Ala Trp Asp Leu Pro Val Val
195 200 205

Gly Tyr Arg Asn Gly Val Ala Gln Pro Leu Arg Leu Trp Gln Ala Thr
210 215 220

His Ala His Pro Phe Asp Leu Thr Lys Phe Asn Asp Gly Asp Phe Leu
225 230 235 240

Arg Ala Glu Gln Gln Gly Ile Asn Ala Glu Lys Leu Thr Lys Val Leu
245 250 255

Tyr Pro Asn Asp Asn His Thr Ala Gly Lys Lys Leu Arg Leu Met Gln
260 265 270

Gln Tyr Phe Gln Cys Ala Cys Ser Val Ala Asp Ile Leu Arg Arg His
275 280 285

His Leu Ala Gly Arg Glu Leu His Glu Leu Ala Asp Tyr Glu Val Ile
290 295 300

Gln Leu Asn Asp Thr His Pro Thr Ile Ala Ile Pro Glu Leu Leu Arg
305 310 315 320

Val Leu Ile Asp Glu His Gln Met Ser Trp Asp Asp Ala Trp Ala Ile
325 330 335

Thr Ser Lys Thr Phe Ala Tyr Thr Asn His Thr Leu Met Pro Glu Ala
340 345 350

Leu Glu Arg Trp Asp Val Lys Leu Val Lys Gly Leu Leu Pro Arg His
355 360 365

Met Gln Ile Ile Asn Glu Ile Asn Thr Arg Phe Lys Thr Leu Val Glu
370 375 380

Lys Thr Trp Pro Gly Asp Glu Lys Val Trp Ala Lys Leu Ala Val Val

385

390

395

400

His Asp Lys Gln Val His Met Ala Asn Leu Cys Val Val Gly Gly Phe
405 410 415

Ala Val Asn Gly Val Ala Ala Leu His Ser Asp Leu Val Val Lys Asp
420 425 430

Leu Phe Pro Glu Tyr His Gln Leu Trp Pro Asn Lys Phe His Asn Val
435 440 445

Thr Asn Gly Ile Thr Pro Arg Arg Trp Ile Lys Gln Cys Asn Pro Ala
450 455 460

Leu Ala Ala Leu Leu Asp Lys Ser Leu Gln Lys Glu Trp Ala Asn Asp
465 470 475 480

Leu Asp Gln Leu Ile Asn Leu Val Lys Leu Ala Asp Asp Ala Lys Phe
485 490 495

Arg Asp Leu Tyr Arg Val Ile Lys Gln Ala Asn Lys Val Arg Leu Ala
500 505 510

Glu Phe Val Lys Val Arg Thr Gly Ile Asp Ile Asn Pro Gln Ala Ile
515 520 525

Phe Asp Ile Gln Ile Lys Arg Leu His Glu Tyr Lys Arg Gln His Leu
530 535 540

Asn Leu Leu His Ile Leu Ala Leu Tyr Lys Glu Ile Arg Glu Asn Pro
545 550 555 560

Gln Ala Asp Arg Val Pro Arg Val Phe Leu Phe Gly Ala Lys Ala Ala
565 570 575

Pro Gly Tyr Tyr Leu Ala Lys Asn Ile Ile Phe Ala Ile Asn Lys Val
580 585 590

Ala Asp Val Ile Asn Asn Asp Pro Leu Val Gly Asp Lys Leu Lys Val
595 600 605

Val Phe Leu Pro Asp Tyr Cys Val Ser Ala Ala Glu Lys Leu Ile Pro
610 615 620

Ala Ala Asp Ile Ser Glu Gln Ile Ser Thr Ala Gly Lys Glu Ala Ser
625 630 635 640

Gly Thr Gly Asn Met Lys Leu Ala Leu Asn Gly Ala Leu Thr Val Gly
 645 650 655

Thr Leu Asp Gly Ala Asn Val Glu Ile Ala Glu Lys Val Gly Glu Glu
 660 665 670

Asn Ile Phe Ile Phe Gly His Thr Val Lys Gln Val Lys Ala Ile Leu
 675 680 685

Ala Lys Gly Tyr Asp Pro Val Lys Trp Arg Lys Lys Asp Lys Val Leu
 690 695 700

Asp Ala Val Leu Lys Glu Leu Glu Ser Gly Lys Tyr Ser Asp Gly Asp
705 710 715 720

Lys His Ala Phe Asp Gln Met Leu His Ser Ile Gly Lys Gln Gly Gly
 725 730 735

Asp Pro Tyr Leu Val Met Ala Asp Phe Ala Ala Tyr Val Glu Ala Gln
740 745 750

Lys Gln Val Asp Val Leu Tyr Arg Asp Gln Glu Ala Trp Thr Arg Ala
755 760 765

Ala Ile Leu Asn Thr Ala Arg Cys Gly Met Phe Ser Ser Asp Arg Ser
770 775 780

Ile Arg Asp Tyr Gln Ala Arg Ile Trp Gln Ala Lys Arg
785 790 795

<210> 36

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> sequence of connection portion of plasmid and gene

<400> 36

acccaaatcg ataggaggaa aacatatgac cttgagt

37

<210> 37

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> sequence of connection portion of plasmid and gene

<400> 37

gcataagagg gggaagtgaa tgaaaaggta ccttcggg

38

<210> 38

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> primer sequence

<400> 38

aaatcgatag gaggaaaaca tatgaccttg agtgagaaaa t

41

<210> 39

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> primer sequence

<400> 39

gaaggtacct ttctattcac ttccccctc

29

<210> 40

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> primer sequence

<400> 40

ttcggatcct caccttgagt gagaaaattc ac

32

<210> 41

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> primer sequence

<400> 41

ttcggatcct ttctattcac ttccccctc

29

【図面の簡単な説明】

【図 1 A】

図 1 A は、GENETYX-WIN Ver. 4.0 のマルチプルアライメントを用いてアライメントした、種々の植物由来の α -グルカンホスホリラーゼのアミノ酸配列を示す図である。

【図 1 B】

図 1 A の続きである。

【図 1 C】

図 1 B の続きである。

【図 1 D】

図 1 C の続きである。

【図 1 E】

図 1 D の続きである。

【図 1 F】

図 1 E の続きである。

【図 1 G】

図 1 F の続きである。

【図 1 H】

図 1 G の続きである。

【図 1 I】

図 1 H の続きである。

【図 2】

図 2 は、プラスミド中での α -グルカンホスホリラーゼ遺伝子の挿入部位の模式図である。

【図 3】

図 3 は、種々の耐熱化 α -グルカンホスホリラーゼを 60℃ で 30 分間または 65℃ で 2 分間インキュベートした場合の残存活性 (%) を示すグラフである。

【図 4】

図 4 は、種々の細菌（大腸菌 TG-1 および大腸菌 BL21）を 50℃、55℃、60℃ または 65℃ で 30 分間加熱した後のホスファターゼの残存活性 (%)

）を示すグラフである。

【図 5】

図 5 は、種々の細菌（大腸菌 T G - 1、大腸菌 B L 2 1 および枯草菌 A N A - 1）を 50℃、55℃、60℃または 65℃で 30 分間加熱した後のアミラーゼの残存活性（%）を示すグラフである。

【図 6】 図 6 は、耐熱化 G P 酵素（三重変異体（F 3 9 L + N 1 3 5 S + T 7 0 6 I））および天然の馬鈴薯タイプ L G P 酵素の比活性の経時的変化を示すグラフである。

【図 7】

図 7 は、耐熱化 G P 酵素（三重変異体（F 3 9 L + N 1 3 5 S + T 7 0 6 I））および天然の馬鈴薯タイプ L G P 酵素を用いて 37℃、50℃、55℃または 60℃で 18 時間保持した場合の、アミロース合成量を示すグラフである。

【書類名】 図面

【図 1 A】

馬鈴薯タイプL	-50:-----MATANGAH-LFNHYS-SNS-RFIHFTSR-NTSSKLFLT -17
馬鈴薯タイプL 2	-81:-----MA--TFAVSGLNSISSISSFNNFRSKNSNIL-LSRRRIILFS -42
サツマイモタイプL	-43:-----M-----SR-LSGITP-RA--RDRSQFQ-NPRLEIAYP -16
ソラメタイプL	-64:HASMT-MRFHPNSTAVTESVPRRGSVYGF-IGYRSSS-LFV--RTNVIKY--RSVKRNLE -12
シロイヌナズナタイプL	1:---MDTMRISGVSTGAEVLIQCN-SLSSLV-SRRCD---DGKWRTRMFAPARNRDLRPSPT 52
ホウレンソウ	1:---MATLPLSSTTPSTGRTECNCFSSYYSSISRVMEFGLKNGCNSK--LLFSSVNYKPMI 55
イネタイプL	1:-----
イネタイプL 2	1:-----MATASAPLQLATASRPLPVG-VGCGGGGGGLHVGGAR 37
トウモロコシタイプL	1:-----GDDHLAAAAARHLPPARLLLRW-RGSPPRAYPE--VGSRR 39
馬鈴薯タイプH	1:-----
ソラメタイプH	1:-----
シロイヌナズナタイプH	1:-----
イネタイプH	1:-----
コムギ	1:-----
CitrusタイプH	1:-----
E.coli MalQ	1:-----
馬鈴薯タイプL	-16:K-TSHFR-RP-KRCFHVNTLSEK---IHHPITEQGGESDLSSF-APDA-ASIT-SSIKY 35
馬鈴薯タイプL 2	-41:FRRRRRSFSVSSVASDQKQTKDSSSDEGFT--LDVFQ-----PDSTSVLS---S-IKY 7
サツマイモタイプL	-15:DRTAGLQ-RT-KRTLIVKCVLDETKQTIQHVVTEKNEGTLDA---A-S-IA-SSIKY 35
ソラメタイプL	-11:FRRRSAF-S-VKCGSGNEAKQVK-DQEVQQAQ--TSPS-SFA--PDT-TSIV-SSIKY 39
シロイヌナズナタイプL	53:R--R-SF-LSVKSISSEP-KAKVT-DAVLDSEQEVFISSMNPFA--PDA-ASVA-SSIKY 102
ホウレンソウ	56:MRGSRRICIVIRNVFSESCKPKEEPIEQETPSILNPLSN--LSPDSASRQS---S-IKY 108
イネタイプL	1:-----RS--VAS-DRGVQGSVSP-EEEISSVLN-SIDS-STIA-SNIKH 37
イネタイプL 2	38:-GGGAAPARR--RLAVRS--VAS-DRGVQGSVSP-EEEISSVLN-SIDS-STIA-SNIKH 87
トウモロコシタイプL	40:-VGVGVEGRLQRRVSARS--VAS-DRDVQGPVSP-AEGLPNVLN-SIGS-SAIA-SNIKH 91
馬鈴薯タイプH	1:-----MEGGAKSND-VSAA-P-IAQPLSEDPD-IAASN-IKY 32
ソラメタイプH	1:-----MGFKVE--TNGGDG--SLVSAKVPLANPLAEPDE-IAASN-ISY 39
シロイヌナズナタイプH	1:-----MANA--N--GKAATS-LPEKISAKANPEADDATE-IAGN-IVY 36
イネタイプH	1:-----MPESN--GAACGAAEKVKPAA--SPASEEPAA-IAGN-ISF 35
コムギ	1:-----M-SA-ADKVKPAA--SPASEDPSA-IAGN-ISY 27
CitrusタイプH	1:-----MADAKA--N--GKNEAAKLA-KIPAAANPLANEPSA-IAASN-ISY 38
E.coli MalQ	1:-----MSQPIFND 8

【図 1 B】

F39



馬鈴薯タイプL	36:HAFTPVFSPE--RFE-LPKAFFATAQS-V--RDSLLINWNA-TYDIYEKLNMKQ-AYYL 87
馬鈴薯タイプL 2	8:HAFTPSFSPE--KFELP-KAYYATAES-V--RDTLIINWNA-TYEFYEKMNVKQ-AYYL 59
サツマイモタイプL	36:HAFTSPAFSPE--RFE-LPKAYFATAQS-V--RDALIVNWN-TYDYYEKLNMKQ-AYYL 87
ソラマメタイプL	40:HAFTPLFSPE--KFE-LPQAFIATAQS-V--RDALINWNA-TYDYYEKLNVKQ-AYYL 91
シロイヌナズナタイプL	103:HAFTPLFSPE--KFE-LPKAFFATAQS-V--RDALIMWNA-TYEYNNRVNVKQ-AYYL 154
ホウレンソウ	109:HAFTPLFAPN--DFSPL-KAFFAAAS-V--RDSLIINWNA-TYAHYEKMNMKQ-AYYL 160
イネタイプL	38:HAFTPVFSPE--HFSPL-KAYHATAKS-V--LDTLIMWNA-TYDYYDRNVKQ-AYYL 89
イネタイプL 2	88:HAFTPVFSPE--HFSPL-KAYHATAKS-V--LDTLIMWNA-TYDYYDRNVKQ-AYYL 139
トウモロコシタイプL	92:HAFTPLFSPE--HFSPL-KAYHATAKS-V--LDALLINWNA-TYDYYNKMNVKQ-AYYL 143
馬鈴薯タイプH	33:HAQYTPHFSPE--KFEPLQ-AYYAAT-A-DSVRDRLIKQWND-TYLHYDKVNPQK-TYYL 85
ソラマメタイプH	40:HAQYTPHFSPE--KFEPLQ-AYYAAT-A-DSVRDRLIKQWNE-TYLHFKVDPKQ-TYYL 91
シロイヌナズナタイプH	37:HAQYSPHFSPL--KFGPEQAFYATAE-S-L--RDRLIQLWNE-TYLHFKTDPKQ-TYYL 88
イネタイプH	36:HAQYSPHFSPL--AFGPEQAFYSTAE-S-V--RDHLVQRWNE-TYLHFKTDPKQ-TYYL 87
コムギ	28:HAQYSPHFSPL--AFGPEQAFYATAE-S-V--RDHLVQRWNE-TYLHFKTDPKQ-TYYL 79
CitrusタイプH	39:HVQYSPHFSPT--KFEPEQAFYATAE-S-V--RDRLIQQWNE-TYHFKVDPKQ-TYYL 90
E.coli MalQ	9:KQFQEA-LSRQWQRYGLNSAAEMTPRQWWLAVSEALAEMLRAPFAKPVANQR-HVN-YI 65

N135



馬鈴薯タイプL	88:SMEFLQGRALLNAIGNLELTGAFAEALKNLGHNLNVASQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 147
馬鈴薯タイプL 2	60:SMEFLQGRALLNAIGNLGLTGPYADALTKLGSLEDVARQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 119
サツマイモタイプL	88:SMEFLQGRALLNAIGNLELTGEYAEALKNLGHNLNVASQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 147
ソラマメタイプL	92:SMEFLQGRALLNAIGNLELTGPYAEALSQSYKLEDVAHQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 151
シロイヌナズナタイプL	155:SMEFLQGRALSNAVGNLGLNSAYGDALKRLGFOLESVASQEPDAPALGNGGLGRLASCFLD 214
ホウレンソウ	161:SMEFLQGRALLNAIGNLELTDAYGDALKLGHNLAVACQERDAALGNGGLGRLASCFLD 220
イネタイプL	90:SMEFLQGRALTNAVGNLELTGQYAEALQQLGHSLEDVATQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 149
イネタイプL 2	140:SMEFLQGRALTNAVGNLELTGQYAEALQQLGHSLEDVATQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 199
トウモロコシタイプL	144:SMEFLQGRALTNAIGNLEITGEYAEALQQLGQNLVDVASQEPDAALGNGGLGRLASCFLD 203
馬鈴薯タイプH	86:SMEYLQGRALTNAVGNLDIHNAYADALNKLGGQLEEVVEQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 145
ソラマメタイプH	92:SMEFLQGRALTNAIGNLNIQDAYADALRKFGLELEEITEQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 151
シロイヌナズナタイプH	89:SMEYLQGRALTNAIGNLNLQGPYADALRTLGYELEEEIAEQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 148
イネタイプH	88:SMEYLQGRALTNAVGNLIGTAYAEAVKKFGYEALVQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 147
コムギ	80:SMEYLQGRALTNAVGNLITGAYADALKKFGYEALVQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 139
CitrusタイプH	91:SMEFLQGRTLTNAIGSLDIQNAYADALNKLGHVLEEIAEQEKDAALGNGGLGRLASCFLD 150
E.coli MalQ	66:SMEFLIGRLTGNLNLNKGWYQDVQDSLKAYDINLTDLLEEIDPALGNGGLGRLAACFLD 125

【図 1 C】

馬鈴薯タイプL	148:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQRI TKDGQEEVAEDWLEIGSPWEVVRN-DV-SYPVKFY	205
馬鈴薯タイプL 2	120:SMATLNYPAGYGLRYQYGLFKQLITKDGQEEVAENWLEMGNPWEIVRN-DI-SYPVKFY	177
サツマイモタイプL	148:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQRI TKDGQEEVAEDWLELGNPWEIIRM-DV-SYPVKFY	205
ソラメタイプL	152:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQRI TKDGQEEVAEDWLEMGNPWEIVRN-DV-SYPVKFY	209
シロイヌナズナタイプL	215:SMATLNYPAGYGLRYKYLFLKQRI TKDGQEEAAEDWLELSNPWEIVRN-DV-SYPVKFY	272
ホウレンソウ	221:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQMITKDGQEEVAENWLEIANPWELVRN-DV-SYPVKFY	278
イネタイプL	150:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQIITKDGQEEVAENWLEMGNPWEIVRT-DV-SYPVKFY	207
イネタイプL 2	200:SLATLNYPAGYGLRYKYLFLKQIITKDGQEEVAENWLEMGNPWEIVRT-DV-SYPVKFY	257
トウモロコシタイプL	204:SLATLNYPALGYGLRYEYGLFKQIITKDGQEEIAENWLEMGPWEVVRN-DV-SYPVKFY	261
馬鈴薯タイプH	146:SMATLNLPAGYGLRYRYGLFKQLITKAGQEEVPEDWLEKFSWEIVRH-DV-VFPIRFF	203
ソラメタイプH	152:SMATLNLPAGYGLRYRYGLFKQIITKEGQEEVAEDWLEKFSWEIVRH-DV-LYPIRFF	209
シロイヌナズナタイプH	149:SMATLNLPAGYGLRYRHGLFKQIITKKGQEEIPEDWLEKFSWEIVRH-DV-VFPIRFF	206
イネタイプH	148:SMATLNLPAGYGLRYRYGLFKQCIITKEGQEEIAEDWLEKFSWEIVRH-DI-VYPIRFF	205
コムギ	140:SMATLNLPAGYGLRYRYGLFKQRIITKEGQEEIAEDWLDKFSWEIVRH-DV-VYPIRFF	197
CitrusタイプH	151:SMATLNLPAGYGLRYRYGLFKQIITKQGQEEVAEDWLEKFSWEVVRH-DV-VFPIRFF	208
E. coli MalQ	126:SMATVQGSATGYGLNYQYGLFRQSFVDGKQVEAPDDWHRSNYPWF--RHNEALDVQVGIG	183
馬鈴薯タイプL	206:GKVSTGSDGKRYWIGGEDIKAVAYDVPIDGYKTRTTISLRLWSTQVPSADFDLSAFNAGE	265
馬鈴薯タイプL 2	178:GKVI EGADGRKEWAGGEDITAVAYDVPIDGYKTKTTINLRLWTTKLAAEFDLAYFNNGD	237
サツマイモタイプL	206:GKVI TGSOGKKHWIGGEDILAVAYDVPIDGYKTRTTISLRLWSTKVPSEDFDLYSFNAGE	265
ソラメタイプL	210:GKVVSOGSDGKKHWVGGEDIKAVAHDPIDGYKTRSTINLRLWSTKAASEEFDLNAFNSGR	269
シロイヌナズナタイプL	273:GKVVSOGSDGKKRWIGGEDIVAVAYDVPIDGYKTKTTINLRLWSTKAPSEDFDLSYNSGK	332
ホウレンソウ	279:GKVVSOGSDGRSHWTGGEDIRAVAYDVPIDGYKTKTTINLRLWCTTVSSEDFDLSAFNAGE	338
イネタイプL	208:GKVVEGTDGRMHWIGGENIKVVAHDIPIDGYKTKTTNNLRLWSTTVPSQDFDLEAFNAGD	267
イネタイプL 2	258:GKVVEGTDGRMHWIGGENIKVVAHDIPIDGYKTKTTNNLRLWSTTVPSQDFDLEAFNAGD	317
トウモロコシタイプL	262:GKVVEGTDGRKHWIGGENIKAVAHDPIDGYKTRTTNNLRLWSTTVPAQDFDLAAFNSGD	321
馬鈴薯タイプH	204:GHVEVLPSGSRKWWGGEVLQALAYDVPIDGYRTKNTNSLRLWEAKASSEDFNLFLFNDGQ	263
ソラメタイプH	210:GQVEVNPDSGRQWIGGEVILALAYDVPIDGYTKNTISLRLWEAKACADDLFLFNDGQ	269
シロイヌナズナタイプH	207:GKVQVNPDSGRKWWGDVYVQALAYDVPIDGYTKNTISLRLWEAKARAEDLFLFNDGQ	266
イネタイプH	206:GHVEILPDGSRKWWGGEVLNALAYDVPIDGYTKNAISLRLWDKASAEFNLFLFNDGQ	265
コムギ	198:GHVEISPDGKRKWWGGEVLNALAYDVPIDGYTKNAISLRLWDATATAEDFNLFLFNDGQ	257
CitrusタイプH	209:GSVMVNPNGTRKWWGGEVVAAYDIPIDGYTKNTISLRLWDKASAEFNLFLFNDGQ	268
E. coli MalQ	184:GKVTK--DGR--WEPEFTITGQAWDLPVVGVRNGVAQPLRLWQATHAP-FDLTKFNDGD	238

【図 1 D】

馬鈴薯タイプL	266:HTKACEAQANAIEKI CYILYPGDESEEGKILRLKQYTLCSASLQDIISRFERRSGDRIK-	324
馬鈴薯タイプL 2	238:HAKAYEAQKKAIEKI CYVLYPGDESLEGKTLRLKQYTLCSASLQDI IARFEKRSNGAVN-	296
サツマイモタイプL	266:HTKACEAQANAIEKI CYILYPGDESIEGKILRLKQYTLCSASLQDI IARFERRSGEYVK-	324
ソラマメタイプL	270:HTEASEALANAIEKI CYILYPGDESIEGKTLRLKQYTLCSASLQDI IARFERRSGASVN-	328
シロイヌナズナタイプL	333:HTEAAEALFNAIEKI CFVLYPGDESTEGKALRLKQYTLCSASLQDI IARFETRSGGNVN-	391
ホウレンソウ	339:HAKANEARANAIEKI CSVLYPGDESMEGKILRLKQYTLCSASLQDI ISQFERRSGEHN-	397
イネタイプL	268:HASAYEAHLNAIEKI CHVLYPGDESPEGKVLRLKQYTLCSASLQDI IARFERRAGDSLS-	326
イネタイプL 2	318:HASAYEAHLNAIEK-----P-----HY-----R-DI IARFERRAGDSLS-	349
トウモロコシタイプL	322:HTKAYEAHLNAIEKI CHILYPGDESLEGKVLRLKQYTLCSASLQDI IARFESRAGESLN-	380
馬鈴薯タイプH	264:YDAAQLHSRAQIICAVLYPGDATENGKLLRLKQYFLCSASLQDI IARFEREDGKGSH	323
ソラマメタイプH	270:LESASVLSRAQIICSVLYPGDATEGGKLLRLKQYFLCSASLQDI ISRFKERRQG----	325
シロイヌナズナタイプH	267:YELAAQLHSRAQICTVLYPGDATENGKLLRLKQYFLCSASLQDI ISRFHERSTTEGSR	326
イネタイプH	266:YESAQLHSRAQIICAVLYPGDATEEGKLLRLKQYFLCSASLQDI IFRFKERKADRVSG	325
コムギ	258:YESAQLHSRAQIICAVLYPGDATEEGKLLRLKQYFLCSASLQDI IFRFKERKADRVSG	317
CitrusタイプH	269:YESAQLHSRAQIICAVLYPGSTEEGKLLRLKQYFLCSASLQDMILRFKERKS-GR-	325
E. coli Mal Q	239:FLRAEQGGINAIEKLTKVLYPNDNHTAGKLLRLMQYFQCACSVADILRRH-HLAG---R	293
馬鈴薯タイプL	325:-WEE---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILIDLKGLNWNEAWNITQRTVAYTNHTVLP	380
馬鈴薯タイプL 2	297:-WDQ---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELLRILMDVKGLSWKQAWIEITQRTVAYTNHTVLP	352
サツマイモタイプL	325:-WEE---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELIRILIDLKGLSWKEAWNITQRTVAYTNHTVLP	380
ソラマメタイプL	329:-WED---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILIDLKGLSWKDAWNITQRTVAYTNHTVLP	384
シロイヌナズナタイプL	392:-WEE---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILMDLKGLSWEDAWNITQRTVAYTNHTVLP	447
ホウレンソウ	398:-WEE---FPEKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILIDVKGLAWKEAWNITQRTVAYTNHTVLP	453
イネタイプL	327:-WED---FPSKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILIDVKGLSWNEAWSITERTVAYTNHTVLP	382
イネタイプL 2	350:-WED---FPSKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILIDVKGLSWNEAWSITERTVAYTNHTVLP	405
トウモロコシタイプL	381:-WED---FPSKVAVQMNDTHPTLCIPELMRILMDVKGLSWSEAWSITERTVAYTNHTVLP	436
馬鈴薯タイプH	324:Q--WS-EFPKVAIQLNTHPTLTIPELMRLLMDDEGLGWDESWNITTRTIAAYTNHTVLP	380
ソラマメタイプH	326:PWNWS-EFPTKVAVQLNDTHPTLSIPELMRLLMDDEGLGWDEAWAVTSKTVAYTNHTVLP	384
シロイヌナズナタイプH	327:KWS---EFPSKVAVQMNDTHPTLAIPELMRLLMDNGLGWDEAWDVTSKTVAYTNHTVLP	383
イネタイプH	326:KWS---EFPAKVAVQLNDTHPTLAIPELMRLLMDVEGLGWDEAWDITNKTIAAYTNHTVLP	382
コムギ	318:KWS---EFPSKVAVQMNDTHPTLAIPELMRLLMDVEGLGWDEAWAVTNKTIVAYTNHTVLP	374
CitrusタイプH	326:QWS---EFPSKVAVQLNDTHPTLAIPELMRLLMDDEGLGWDEAWDITTRTIVAYTNHTVLP	382
E. coli Mal Q	294:ELHELADYEV---IQLNTHPTLAIPELLRVLIDEHQMSWDDAWAITSKTFAYTNHTLMP	350

【図 1 E】

馬鈴薯タイプL	381:EALEKWSYELMQKLLPRHVEIIEAIDEELVHEIVLKYGSMDLNKLEEKLTMRILENFDL	440
馬鈴薯タイプL 2	353:EALEKWSFTLLGELLPRHVEIIEAMIDEELLHTILAEGTDLQLLEKLNQMRILDNVEI	412
サツマイモタイプL	381:EALEKWSYELMEKLLPRHVEIIEIMIDEQLINEIVSEYGTSDLOMLEKKLNDMRILENFDI	440
ソラメタイプL	385:EALEKWSMDLMEKLLPRHVEIIEIMIDEELIRTIIEYGTADSDLLDKKLEKMRILENVEL	444
シロイヌナズナタイプL	448:EALEKWSLELMEKLLPRHVEIIEKIDEELVRTIVSEYGTADPDLLLEKLEKMRILENVEL	507
ハウレンソウ	454:EALEKWSFELMQSLLPRHVEIIEKIDEELVDTIVSEYGTDDPKLLMGKLNELRILENFHL	513
イネタイプL	383:EALEKWSLDIMQKLLPRHVEIIEKIDGELMNIISKYGTEDTSLLKKKIKEMRILDNIDL	442
イネタイプL 2	406:EALEKWSLDIMQKLLPRHVEIIEKIDGELMNIISKYGTEDTSLLKKKIKEMRILDNIDL	465
トウモロコシタイプL	437:EALEKWSLDIMQKLLPRHVEIIEIDELINNIIVSKYGTDTTELLKKKLEKMRILDNVDL	496
馬鈴薯タイプH	381:EALEKWSQAVMWKLLPRHMEIEEIDKRFVATIMS---ERP-DLENKMPS-MRIL---	430
ソラメタイプH	385:EALEKWSQPVMWKLLPRHMEIEEIDRRFVALISK---TRL-DLEDEVSN-MRIL---	434
シロイヌナズナタイプH	384:EALEKWSQSLMWKLLPRHMEIEEIDKRFVQTI RD---TRV-DLEDKISS-LSIL---	433
イネタイプH	383:EALEKWSQIVMRKLLPRHMEIEEIDKRFKEMVIS---TRK-EMEGKIDS-MRIL---	432
コムギ	375:EALEKWSQAVMKLLPRHMEIEEIDKRFREMVIS---TRK-DMEGKIES-MRVL---	424
CitrusタイプH	383:EALEKWSQAVMWKLLPRHMEIEEIDKRFIAMVRS---TRS-DLESKIPS-MCIL---	432
E.coli MalQ	351:EALERWDVKLVKGLLPRHMQIINEINTR-----F-KT-----L-----	382
馬鈴薯タイプL	441:PSSVAELFIKPEISVDDDTETVEVHD-KVEASDKVVTNDEDDTGKKTSVKIEAAAE----	495
馬鈴薯タイプL 2	413:PSSVLELLIKAE-SAADV-----E-KAADEEQEEEGKDD-SKDEETEA-VKAETNEE	462
サツマイモタイプL	441:PSSIANLFTKPK---ET---SIVDPSE-EVEVSGKVVTESVEVSDKVVTESKDELEE---	491
ソラメタイプL	445:PAEFADILVKTKEATDISSEEVQIS---KEGEEEE-TSKEGEEEEEEKEVGGGREGDDG	502
シロイヌナズナタイプL	508:PSAFADVIVKPVNKPVTAKDA-QNGV-KTEQEE-EKTA---GEEED-----	548
ハウレンソウ	514:PSSVASII-KDKITCQVDE-----D-KKI-----EIS-DEVD-GLVVVEESE--	551
イネタイプL	443:PDSIAKLFVKPKKKESPAKLKEKLLVK-SL-EPSSVVVEEKTYSKV--EINEDSEEVEVD	498
イネタイプL 2	466:PDSIAKLFVKPKKKESPAKLKEKLLVK-SL-EPSSVVVEEKTYSKV--EINEDSEEVEVD	521
トウモロコシタイプL	497:PASISQLFVKPKDKKESPAKSKQKLLVK-SL-ETIVEVEEKTLEEEAEVLSEIEEEKLE	554
馬鈴薯タイプH	431:-----DH-----N-----	433
ソラメタイプH	435:-----DN-----N-----	437
シロイヌナズナタイプH	434:-----DN-----N-----	436
イネタイプH	433:-----DN-----S-----	435
コムギ	425:-----DN-----N-----	427
CitrusタイプH	433:-----DN-----N-----	435
E.coli MalQ	383:-----V-----EKTWPGDEKVWAK-LAV-----	399

【図 1 F】

馬鈴薯タイプL	496:K-----DIDKKTPTS-----PEPAVIPPCKVVRMANLCVVGGHAVNGVAEIHSE 538
馬鈴薯タイプL 2	463:EETEVKKVEEDSQAKIK-----RIFG-PHPNKPQV---VHMANLCVVSGHAVNGVAEIHSE 515
サツマイモタイプL	492:K-----DTELEKDED-----PVPAPIPPKMVRMANLCVVGGHAVNGVAEIHSD 534
ソラメタイプL	503:KEDEVEKAI AEKDGTVKSSIGDKKKLPEPVPPKLVVRMANLCVVGGHAVNGVAEIHSE 562
シロイヌナズナタイプL	549:---EV-----IPEPTVEPPKMVRMANLAVVGGHAVNGVAEIHSE 584
ホウレンソウ	552:-EGDIEKQAVEEPVVK-----PAKL-----VRMANLCVVGGHAVNGVAEIHSD 593
イネタイプL	499:SEEVVEAENEDSEDELDPFV---KSD---PKL-PRV-VRMANLCVVGGHSVNGVAAIHSE 550
イネタイプL 2	522:SEEVVEAENEDSEDELDPFV---KSD---PKL-PRV-VRMANLCVVGGHSVNGVAAIHSE 573
トウモロコシタイプL	555:SEEVVEAEEAS-SEDELDPFV---KSD---PKL-PRV-VRMANLCVVGGHSVNGVAEIHSE 605
馬鈴薯タイプH	434:-----ATK-PVV---HMANLCVVSSHTVNGVAQLHSD 461
ソラメタイプH	438:-----LQK-PVV---RMANLCVVSSHTVNGVAQLHSD 465
シロイヌナズナタイプH	437:-----PQK-PVV---RMANLCVVSSHTVNGVAQLHSD 464
イネタイプH	436:-----NPQKPVV---RMANLCVVSAHTVNGVAELHSN 464
コムギ	428:-----P-EKPVV---RMANLCVVAGHTVNGVAELHSN 455
CitrusタイプH	436:-----PKK-PVV---RMANLCVVSAHTVNGVAQLHSD 463
E.coli MalQ	400:-----VHD-----KQV-----HMANLCVVGGFAVNGVAALHSD 427
馬鈴薯タイプL	559:IVKEEVFNDFYELWPEKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPPLSAIITKWTGTEDWVLKTEKLAE 598
馬鈴薯タイプL 2	516:IVKDEVFNEFYKLWPEKFQNKTNVTGTPRRWLSFCNPELSEIITKWTGSDDWLNTTEKLAE 575
サツマイモタイプL	535:IVKEDVFNDYFYLWPEKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPALSNIITKWTGTEDWVLNTEKLAE 594
ソラメタイプL	563:IVKDDVFNAFYKLWPEKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPDLSKIITQWGTEDWVLNTEKLAE 621
シロイヌナズナタイプL	585:IVKQDVFNDFVQLWPEKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPYLSDIITNWGTEDWVLNTEKVAE 644
ホウレンソウ	594:IVKEQVFRDFFELWPEKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPELSEIITKWIGSDDWVLNTEKLAE 653
イネタイプL	551:IVKEDVFNSFYEMWPAKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPELSEIISKWIGSDDWVLNTEKLAE 610
イネタイプL 2	574:IVKEDVFNSFYEMWPAKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPELSEIISKWIGSDDWVLNTEKLAE 633
トウモロコシタイプL	606:IVKQDVFNDFYEMWPAKFQNKTNVTGTPRRWIRFCNPALSALIISKWIGSDDWVLNTEKLAE 665
馬鈴薯タイプH	462:ILKAELFADYVSVWPTKFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 521
ソラメタイプH	466:ILKSELFASYVSIWPTKFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 525
シロイヌナズナタイプH	465:ILKAELFADYVSIWPNKFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 524
イネタイプH	465:ILKEELFADYLSIWPKNKFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 524
コムギ	456:ILKQELFADYVSIWPNKFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 515
CitrusタイプH	464:ILKADLFADYVSLWPNKLFQNKTNGITPRRWIRFCNPELSEIITKWIKTDQWVTNLELLAN 523
E.coli MalQ	428:LTVKDLFPEYHQLWPNKFHNVTNGITPRRWIKQCNPALAALLDKSLQKE-WANDLDQLIN 486

【図 1 G】

馬鈴薯タイプL	599:LQKFADNEDLQNEWREAKRSNKIKVVSFLKEKTGYSVVPDAMFDIQVKRIHEYKRQLLN	658
馬鈴薯タイプL 2	576:LRKFADNEELQSEWRKAKGNKMKIVSLIKEKTGYVVSPPDAMFDVQIKRIHEYKRQLLN	635
サツマイモタイプL	595:LRKFADNEDLQIEWRAAKRSNKVKVASFLKERTGYSVSPNAMFDIQVKRIHEYKRQLLN	654
ソラマメタイプL	622:LRKFADNEDLQTQWREAKRNKVKVAFLRERTGYSVSPDSMFDIQVKRIHEYKRQLLN	681
シロイヌナズナタイプL	645:LRKFADNEDLQSEWRAAKKKNKLVVSLIKERTGYTVSPDAMFDIQIKRIHEYKRQLLN	704
ホウレンソウ	654:LRKFADNKDLHTEWMAKRNKQKVVSILIKERTGYTVSPDAMFDIQIKRIHEYKRQLLN	713
イネタイプL	611:LKKFADDEDLQSEWRAAKKANKVKVVSILIREKTGYIVSPDAMFDVQVKRIHEYKRQLLN	670
イネタイプL 2	634:LKKFADDEDLQSEWRAAKKANKVKVVSILIREKTGYIVSPDAMFDVQVKRIHEYKRQLLN	693
トウモロコシタイプL	666:LKKFADNEDLHSEWRAAKKANKMKVVSILIREKTGYIVSPDAMFDVQVKRIHEYKRQLLN	725
馬鈴薯タイプH	522:LREFADNSELHAEWESAKMANKQRLAQYILHVTGVSIDPNSLFDIQVKRIHEYKRQLLN	581
ソラマメタイプH	526:LREFADNEDLQAEWLSAKRANKQRLAQYVLQVTGENIDPDSLFDIQVKRIHEYKRQLLN	585
シロイヌナズナタイプH	525:LRQFADNEELQSEWASAKTANKKRLAQYIERVTGVSIDPNSLFDIQVKRIHEYKRQLLN	584
イネタイプH	525:LRKFADDEKLHAEWASAKLAKKRLAKHVLDVTGVTIDPNSLFDIQIKRIHEYKRQLLN	584
コムギ	516:LRKFADDEKLHAEWAAKLSAKKRLAKHVLDVTGVTIDPNSLFDIQIKRIHEYKRQLLN	575
CitrusタイプH	524:LRQFADNTELQAEWESAKMASKHLADYIWRVTGVTIDPNSLFDIQVKRIHEYKRQLLN	583
E.coli Mal Q	487:LVKLADDAKFRDLYRVIKQANKVRLAEFVKVRTGIDINPQAIFDIQIKRLHEYKRQHLNL	546

T706

↓

馬鈴薯タイプL	659:FGIVYRYKKMKEMTAAERKTNFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVGATINHDP	718
馬鈴薯タイプL 2	636:FGIVYRYKKMKEMSPEERKEKVFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVGATINHDP	695
サツマイモタイプL	655:LGIVYRYKQMKEMSAREREKVFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIAKFITDVGATINHDP	714
ソラマメタイプL	682:FGIVYRYKKMKEMNAAERKENFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVGATINHDP	741
シロイヌナズナタイプL	705:LGIVYRYKKMKEMSASEREKAFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVASTINHDP	764
ホウレンソウ	714:LGIVYRYKKMKEMSAERKEKYVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVGATINHDP	773
イネタイプL	671:LGIVYRYKKMKEMSAKDRINSFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVAATVNHDP	730
イネタイプL 2	694:LGIVYRYKKMKEMSAKDRINSFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVAATVNHDP	753
トウモロコシタイプL	726:LGIVYRYKKMKEMSTEERAKSFVPRVCIFGGKAFATYVQAKRIVKFITDVAATVNHDS	785
馬鈴薯タイプH	582:LGVIYRYKKLKEMSPEERKNTT-PRVMI GGKAFATYTNAKRIVKLVDVGDVNVSDPDV	640
ソラマメタイプH	585:LGVIYRYKKLKEMSPEERKSTT-ARTVMI GGKAFATYTNAKRIVKLVDVGDVNVSDPEV	644
シロイヌナズナタイプH	585:LGAVYRYKKLKEMSPEERKKT-PRVMI GGKAFATYTNAKRIVKLVDVGDVNVSDPEV	643
イネタイプH	576:LGAVYRYKKLKEMSAADRQKVT-PRVMI GGKAFATYTNAKRIVKLVDVGDVNVNDPDV	634
コムギ	584:LGAIVYRYKKLKEMSPERKKT-PRTIMFGGKAFATYTNAKRIVKLVDVGEVNVNDPEV	642
CitrusタイプH	547:LHILALYKEIRENPQADRV---PRVFLGAKAAGPYLAKNIIFAINKVADVINDPLV	602
E.coli Mal Q		

【図 1 H】

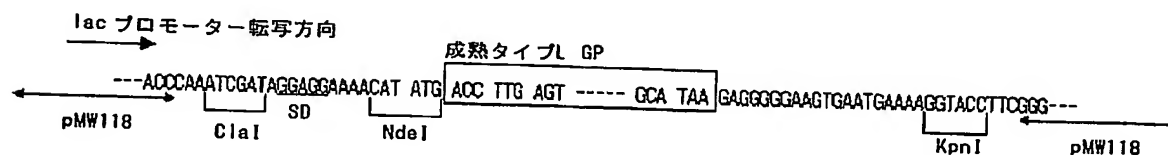
馬鈴薯タイプL	719:GDLLKVVFPDYNVSVAEELLIPASDLSEHISTAGMEASGTSNMKFAMNGCIIIGTLDGAN 778
馬鈴薯タイプL 2	696:GDLLKVVFPDYNVSVAEVLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSMNGCLIIIGTLDGAN 755
サツマイモタイプL	715:GDLLKVI FVPDYNVSAEELLIPASGLSQHIISTAGMEASGQSNMKFAMNGCIIIGTLDGAN 774
ソラメタイプL	742:GDLLKVI FVPDYNVSVAEMLIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFAMNGCLIIIGTLDGAN 801
シロイヌナズナタイプL	765:GDLLKVI FVPDYNVSVAEELLIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSMNGCVLIIIGTLDGAN 824
ホウレンソウ	774:GDLLKVVFI PDYNVSVAEELLIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSMNGCIIIGTLDGAN 833
イネタイプL	731:GDLLKVVFI PDYNVSVAEALIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFAMNGCIIIGTLDGAN 790
イネタイプL 2	754:GDLLKVVFI PDYNVSVAEALIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFAMNGCIIIGTLDGAN 813
トウモロコシタイプL	786:GDLLKVVFPDYNVSVAEALIPASELSQHIISTAGMEASGTSNMKFAMNGCIIIGTLDGAN 845
馬鈴薯タイプH	641:NDYLLKVVFPNPNVSVAEMLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFALNGCLIIIGTLDGAN 700
ソラメタイプH	645:NSYLLKVVFPNPNVSVAEVLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFALNRVLIIIGTLDGAN 704
シロイヌナズナタイプH	644:NEYLKVVFPNPNVTVAEMLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFALNGCLIIIGTLDGAN 703
イネタイプH	644:NKYLKVVFI PPNVSVAEVLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSLNGCVIIGTLDGAN 703
コムギ	635:NKYLKVVFI PPNVSVAEVLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSLNGCVIIGTLDGAN 694
CitrusタイプH	643:NSYLLKVVFPNPNVSVAEELLIPGSELSQHIISTAGMEASGTSNMKFSLNGCLIIIGTLDGAN 702
E.coli MalQ	603:GDKLKVVFLPDYCVSAAEKLIPAADISEQISTAGKEASGTGNMKLALNGALTVGTLGDAN 662
馬鈴薯タイプL	779:VEIREEVGEENFFLFGAQAHEIAGLR-KERADGKFVDPDRFEEVK--EFVRSGAFGSYN- 834
馬鈴薯タイプL 2	756:VEIREEVGEDNFFLFGAQAHEIAGLR-KERAEGKFVDPDRFEEVK--AFIRTVGFGTYN- 811
サツマイモタイプL	775:VEIRQEVGEENFFLFGAQAHEIAGLR-KERAEGKFVDPDRFEEVK--EFIKRGVFGSNT- 830
ソラメタイプL	802:VEIREEVGADNFFLFGAKAREIVGLR-KERARGKFVDPDRFEEVK--KFVRSGVFGSYN- 857
シロイヌナズナタイプL	825:VEIREEVGEENFFLFGAKADQIVNLR-KERAEGKFVDPPTFEEVK--KFVGSVFGSNS- 880
ホウレンソウ	834:VEIREEVGEDNFFLFGARAHDIAGLR-KERAEGKYVPDPCFEEVK--EYVRSGVFGSNS- 889
イネタイプL	791:VEIREEVGEENFFLFGAQAHEIAGLR-KERAQGFVDPDRFEEVK--RFVRSGVFGTYN- 846
イネタイプL 2	814:VEIREEVGEENFFLFGAQAHEIAGLR-KERAQGFVDPDRFEEVK--RFVRSGVFGTYN- 869
トウモロコシタイプL	846:VEIREEVGEENFFLFGAQAHEIAGLR-KERAEGKFVDPDRFEEVK--EFVRSGVFGTYS- 901
馬鈴薯タイプH	701:VEIR EEIGEDNFFLFGATADEVPQLR-KDRENGLFKPDPRFEEAK--QFIRSGAFGTYS- 756
ソラメタイプH	705:VEIR EEIG EENFFLFGATADEVPRLR-KERENGFLFKPDPRFEEAK--KFIRSGVFGSYD- 760
シロイヌナズナタイプH	704:VEIREEVGEENFFLFGATADQVPRLR-KEREDGLFKPDPRFEEAK--QFVKSGVFGSYD- 759
イネタイプH	704:VEIREEVQENFFLFGAKADQVAGLR-KDRENGLFKPDPRFEEAK--QLIRSGAFGTYS- 759
コムギ	695:VEIREEVQDNFFLFGAKADQVAGLR-KDRENGLFKPDPRFEEAK--QFIRSGAFGTYS- 750
CitrusタイプH	703:VEIRQEIG EENFFLFGAGADQVPKLR-KEREDGLFKPDPRFEEAK--QFIRSGAFGSYD- 758
E.coli MalQ	663:VEIAEKVGEENIFIFGHTVKQVKAILAKGYDPVKWRKKDKVLDVAVLKELES-GKYSDDGDK 721

【図 1 I】

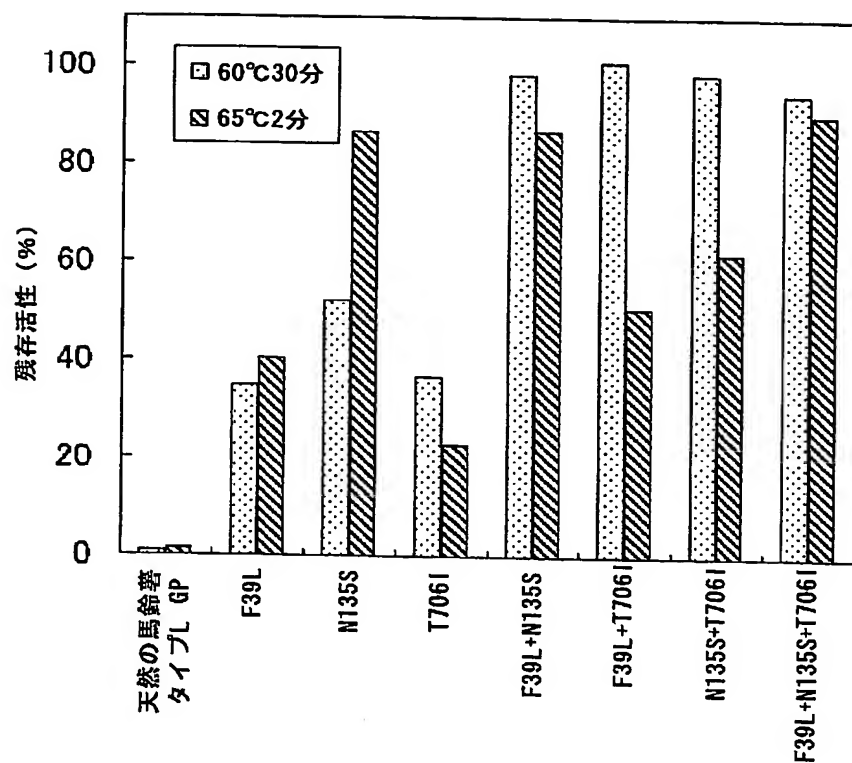
馬鈴薯タイプL	835:--YDDLIGSLEGNEGFRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDEAYRDQKRWTTMSILNTAGSY	892
馬鈴薯タイプL 2	812:--YEELMGSLGNEGGRADYFLVGKDFPDYIECQDKVDEAYRDQKKWTKMSILNTAGSF	869
サツマイモタイプL	831:--YDELLGSLEGNEGFRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDEAYRDQKIWTRMSILNTAGSY	888
ソラメタイプL	858:--YDELIGSLEGNEGFRADYFLVGKDFPSYIECQEEVDKAYRDQKKWTRMSILNTAGSS	915
シロイヌナズナタイプL	881:--YDELIGSLEGNEGFRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDEAYRDQKRWTRMSIMNTAGSF	938
ハウレンソウ	890:--YDELLGSLEGNEGFRADYFLVGKDFPSYIECQEQVDQAYRDQKKWTRMSILNTAGSF	947
イネタイプL	847:--YDDLMSLEGNEGGRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDKAYRDQKLWTRMSILNTAGSS	904
イネタイプL 2	870:--YDDLMSLEGNEGGRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDKAYRDQKLWTRMSILNTAGSS	927
トウモロコシタイプL	902:--YDELMGSLEGNEGGRADYFLVGKDFPSYIECQEKVDEAYRDQKLWTRMSILNTAGSS	959
馬鈴薯タイプH	757:--YNPLLESLEGNSGYGRGDYFLVGHDFFPSYMDAQARVDEAYKDRKRWIKMSILSTAGSG	814
ソラメタイプH	761:--YNPLDSLEGNSGYGRGDYFLVGHDFFPSYMDAQEKVDEAYRDKRWLWIKMSILSTAGSG	818
シロイヌナズナタイプH	760:--YGPLDSLEGNTGFRGDYFLVGHDFFPSYMDAQAKVDEAYKDRKRWLWIKMSILSTAGSG	817
イネタイプH	760:--YAPLLDSLEGNSGFGRGDYFLVGHDFFPSYIDAQAVDEAYKDKKKWIKMSILNTAGSG	817
コムギ	751:--YTPLDSLEGNTGFRGDYFLVGHDFFPSYIDAQARVDEAYKDKKKWIKMSILNTAGSG	808
CitrusタイプH	759:--YNPLDSLEGNTGYGRGDYFLVGHDFFPSYLEAQDRVDQAYKDRKKWLWIKMSILSTAGSG	816
E.coli MalQ	722:HAFDQMLHSIGKGGG-DP--YLVMA-DFAAYVEAQKQVDVLYRDQEAWTRAAILNTARCG	777

馬鈴薯タイプL	893:KFSSDRTIHEYAKDIW--NIEAVEIA	916
馬鈴薯タイプL 2	870:KFSSDRTIHQYARDIW--RIEPVELP	893
サツマイモタイプL	889:KFSSDRTIHEYAKDIW--NIQPVVFP	912
ソラメタイプL	916:KFSSDRTIHEYAREIW--NIEPVKLE	939
シロイヌナズナタイプL	939:KFSSDRTIHEYAKDIW--NIKQVELP	962
ハウレンソウ	948:KFSSDRTIHQYAKDIW--NIHPVNL	971
イネタイプL	905:KFNSDRTIHEYAKDIW--DIKPVILP	928
イネタイプL 2	928:KFNSDRTIHEYAKDIW--DIKPVILP	951
トウモロコシタイプL	960:KFSSDRTIHEYAKDIW--DISPAILP	983
馬鈴薯タイプH	815:KFSSDRTISQYAKEIW--NIAECRVP	838
ソラメタイプH	819:KFSSDRTIAQYAKEIW--NIEECRVP	842
シロイヌナズナタイプH	818:KFSSDRTIAQYAKEIW--NIEACPVP	841
イネタイプH	818:KFSSDRTIAQYAKEIW--GITAPVPS	841
コムギ	809:KFSSDRTIDQYAKEIW--GISACPVP	832
CitrusタイプH	817:KFSSDRTIAQYAKEIW--NITECRTS	840
E.coli MalQ	778:MFSSDRSIRDYQARIWQAKR-----	797

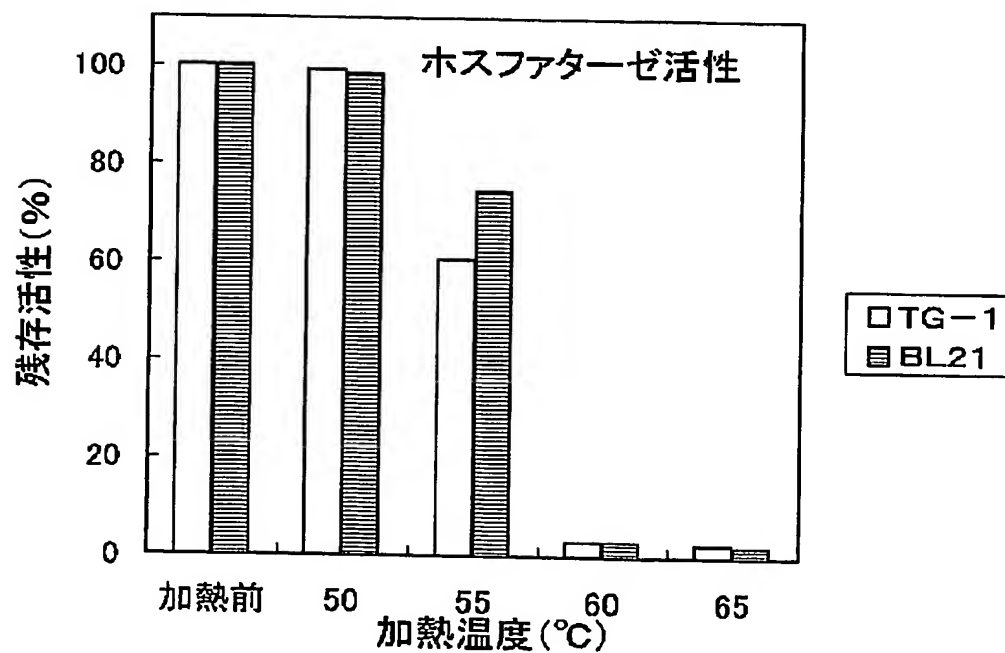
【図 2】



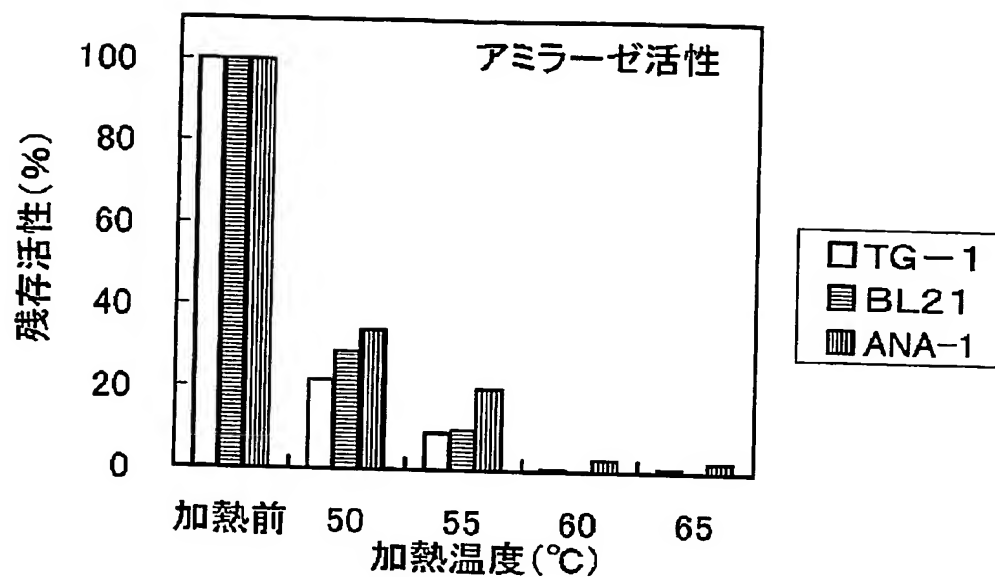
【図 3】



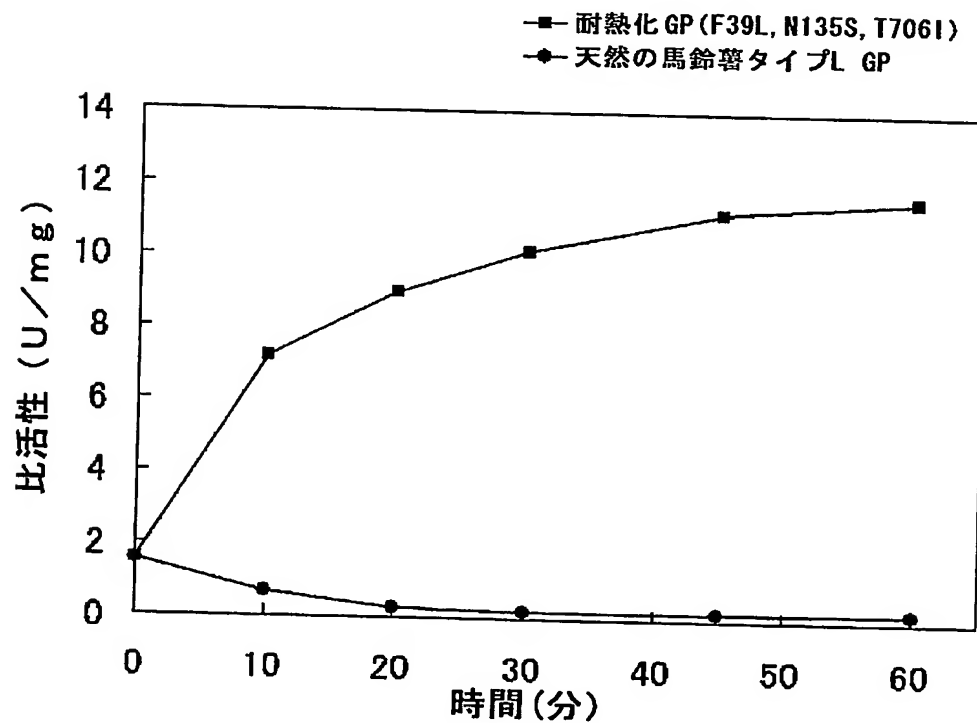
【図 4】



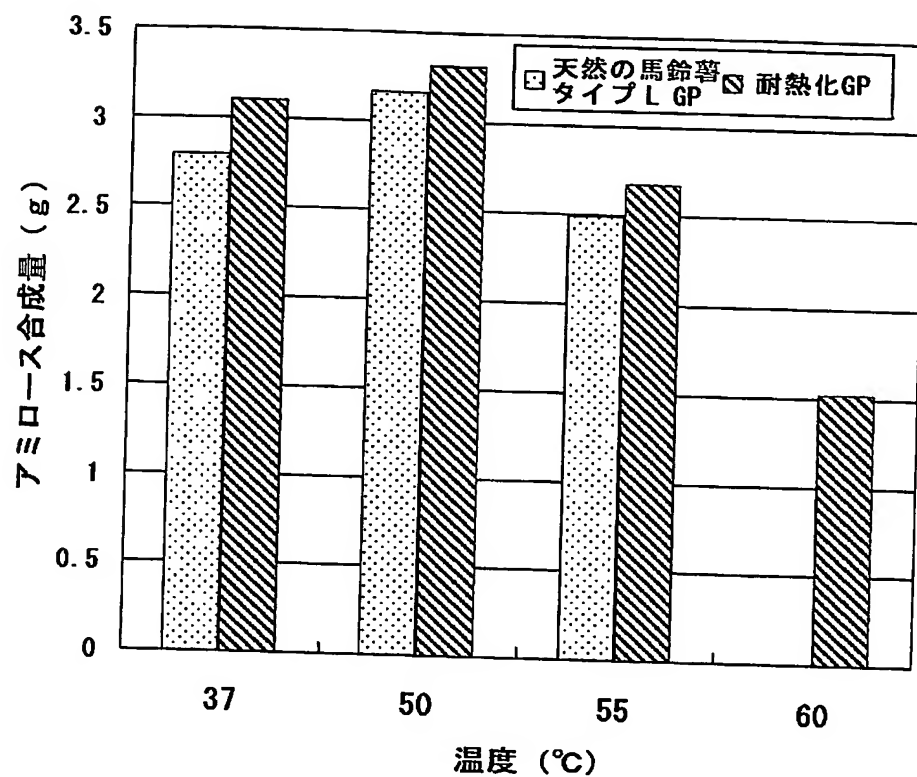
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 従来の α -グルカンホスホリラーゼよりも耐熱性が高い、植物由来の α -グルカンホスホリラーゼを提供すること。

【解決手段】 天然の α -グルカンホスホリラーゼ(GP)を改変して得られる耐熱化GPであって、該天然のGPは、植物由来であり、該耐熱化GPは、天然の馬鈴薯タイプL GPのアミノ酸配列の39位フェニルアラニンに相当する位置、135位アスパラギンに相当する位置および706位トレオニンに相当する位置からなる群より選択される少なくとも1つの位置において、該天然のGPとは異なるアミノ酸残基を有し、かつ該耐熱化GPを20mMクエン酸緩衝液(pH 6.7)中で60℃で10分間加熱した後の耐熱化GPの37℃における酵素活性が、該加熱前の耐熱化GPの37℃における酵素活性の20%以上である。

【選択図】 なし

特願 2003-173972

ページ: 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000000228]

1. 変更年月日

1990年 8月10日

[変更理由]

新規登録

住所

大阪府大阪市西淀川区歌島4丁目6番5号

氏名

江崎グリコ株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.